ISSN 0376—477X

中華農業研究

第四十七卷　　第四期

目　次

臺南白玉米族群自交系之育成與評估……謝光照　曾富生…327

水稻臺農 67 號胚癒合組織之誘導及再生力研究……夏奇鈮　王強生…338

彩虹鳥蕉組織培養之研究

Ⅰ.培植體離體培養污染細菌之檢定及防治……蕭翌柱　許秀惠　王才義　蔡新聲…346

培養基組成與培養容器覆蓋物對康乃馨組織培養

苗玻璃質化與發根的影響……陳威臣　蕭翌柱　賴建洲　蔡新聲…364

甜瓜逢機增幅多型性核酸（RAPD）標誌分析及

其遺傳特性之研究……劉邦基　張有明　許華欣　鄭櫻慧　張慧如　蕭吉雄…377

荔枝園營養調查與營養診斷研究……黃維廷　黃裕銘　向為民　張明暉　林木連　王鐘和　吳婉麗…388

蓮霧汁生產細菌纖維素之研究……楊淑惠…408

稻穀不同儲存方式對積穀害蟲族群之影響……姚美吉　楊敏宗　羅幹成…419

中華民國八十七年十二月

臺灣省農業試驗所出版

中華民國　臺灣省　臺中縣　霧峰鄉

中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）47(4)：327～337（1998）

台南白玉米族群自交系之育成與評估 [1]

謝光照 [2] 曾富生 [3]

摘要：在玉米育種過程中，自交系組合力的相對大小之檢測爲一重要工作。本研究以外來具有良好一般組合力之自交系爲檢定親，進行不同地區台南白族群分離至 S_4 世代自交系之組合力檢定，結果顯示可很有效的把族群內自交系優劣加以區分。而再以國際玉米小麥中心(CIMMYT)引進的 18 個自交系當檢定親，檢定不同地區台南白族群間其自交系組合力是否有遺傳上差異存在，亦發現不同地區之台南白自交系其一般及特殊組合力均有明顯差異存在。

關鍵詞：台南白、玉米、自交系、組合力檢定。

前　言

玉米種源的類別繁多，凡是外來族群(exotic population)、天然授粉品種 (open pollinated variety) 、合成品種(synthetic variety)、綜合品種(composite variety)、改良的族群(improved population)及自交系，均爲育種材料而可加以利用。台南白在台灣全省各地普遍栽培已有十分久遠的歷史，且當地農民均採自行留種，加上台灣各地之農業生態型有顯著差異，因此在不同的栽培環境其產量及農藝性狀的表現上有明顯差異[3]；且不同地區之台南白族群的農藝性狀之平均值亦有顯著差異，被認爲不同地區之族群間有分化形成[1,2]；同時各不同地區台南白族群內仍然維持著極大的遺傳變異[4]。玉米台南白爲一天然授粉品種，具有種實粒大、生長旺盛、但性狀不整齊，然而有較強的適應性且抗病蟲害，在以育成適合台灣消費者喜愛的鮮食用玉米目標下，台南白應是相當好的育種材料。

異型結合體的種源材料，經自交過程培育成自交系，才能雜交形成 F_1 雜種。一般自交系組合力的檢定親，可以選擇遺傳基礎較廣的天然授粉品種、合成品種、雙雜交種進行頂交，淘汰大部份一般組合力較差的自交系，再以單交或測交法選出較優之雜交組合。Horner *et al.*[10] 以自交系、單交種及合成品種當花粉親，進行自交系組合力檢定，結果顯示籽粒產量的表現在三種不同類型的檢定親間，並沒有差異存在。同時自交系也可用於檢測一般組合力的改善效果[9,12]。Darrah *et al.*[7]、Comstock[6] 與 Charcosset *et al.*[5]等學者的研究均認爲以自交系當檢定親比族群當檢定親具有較大的遺傳變異，可有效的鑑別受檢自交系組合力的高低。

本研究目的，在於探討外來自交系是否可用於鑑別不同地區台南白族群之自交系其遺傳上組合力之差異，以作爲育種上自交系選拔之依據。

---

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1956 號。
2. 本所農藝系助理研究員。台灣省　台中縣　霧峰鄉。
3. 國立中興大學農藝學系教授。臺灣省　臺中市。

材料與方法

一、台南白族群內自交系組合力檢定

由八個不同地點搜集而得之台南白族群自交分離至 S_4 之系統，每一族群根據植株外觀整齊度、株型、穗型及果穗大小選留四個爲受檢親， 以CIMMYT自交系CML76、CML84、CML93 、CML98 及CML104當作檢定親， 進行測交種子之生產。於 1993 年秋作進行田間試驗，以逢機排列，單行 區，行長 6m，行株距 80×30cm，二重複，來檢測受檢親之一般組合力。 調查性狀包括幼苗整齊度、開花期、吐絲期、株高、穗位高、含苞葉果穗鮮重、果穗鮮重、果穗率等。

二、受檢親自交系性狀之調查

經上項組合力檢定由 8 個不同地區台南白族群分別分離所獲留之一個自交系(代號爲 TNW A～TNW H)，於 1994 年春種植於農試所試驗田，每 一自交系採單行區，行長 6m，行株距爲 80×30cm 。肥料三要素爲 N：P_2O_5：K_2O=200：90：60kg/ha，氮素 60kg 及磷、鉀肥全數當基肥，其餘氮 素 140kg/ha 於齊膝期培土時施用，其餘田間管理，按玉米一般栽培法進 行。記錄及調查性狀包含譜系、粒型、達開花期生長累積溫度、株高、 穗位高、總葉數、頂穗節位、穗數、單株葉面積、穗長、百粒重及行數。

三、不同地區族群間自交系之組合力檢定

利用上項組合力檢定，由 8 個族群中各選留一個表現較佳之自交系 (代號爲 TNW A～TNW H)，再以CIMMYT引進自交系 18 個進行組合力檢定。台南白八個不同地點之自交系當受檢親，而CIMMYT引進之自交系 18 個 (詳如 Table 1) 爲檢定親，進行測交種種子生產。組合力檢定試驗則於 1994 年春作進行。田間設計爲兩因子參試之逢機完全區集設計(RCBD)之複因子試驗，A 因子爲台南白八個自交系，B 因子爲 CIMMYT 引進 18 個自交 系，二重複，單行區，行長 6m，行株距 80×30cm，田間管理如玉米一般栽培程序進行之。調查性狀包括分蘗數、株高、穗位高、含苞葉之果穗鮮重、果穗鮮重、果穗率、穗長及行數。

以上各項試驗所調查之性狀及方法分述於下：

(1)幼苗整齊度(uniformity of seedings)：根據國際玉米小麥中心玉米田間調查手冊之分類，把玉米幼苗之整齊度分 1(整齊)；2(中等)；3(不整齊)三類。

(2)開花期(days to tasseling)：係指由播種日起至小區中有 50%植株達雄穗始花所需之日數。

(3)吐絲期(days to silking)：係指由播種日起至小區中有 50%植株達雌穗吐絲所需之日數。

(4)株高(plant height)：於植株雄穗開花後，每小區逢機 10 株，由地面至雄穗穗頸節之平均高度，以 cm 表示。

(5)穗位高(ear height)：於雌穗吐絲後，每小區逢機 10 株，由地表至最上位雌穗著生節位之平均高度，以 cm 表示。

(6)含苞葉果穗鮮重(fresh weight of ear with husk)：於籽粒充實之乳熟期間，每小區逢機採收 5 穗，秤量 5 穗含苞葉之鮮果穗重，以 kg/5 ear 表示。

(7)果穗鮮重(ear fresh weight)：上述逢機之 5 穗剝掉苞葉後，其不含苞葉鮮果穗之重量，以 kg/5 ear 表示。

(8)果穗率(ear percent)：(果穗重/含苞葉果穗重)×100 %表示之。

(9)分蘗數(No. of tillers)：幼苗出土後 45 天，調查單株之平均分蘗數，以 No./plant 表示。

(10)穗長(ear length)：乳熟期之鮮果穗，逢機取 10 穗，量其整穗長度之平均，以 cm 表示。

(11)行數(row number)：乳熟期採收之果穗，逢機取 10 穗，調查其單穗之平均子粒行數，No./ear 表示。

(12)達雄穗開花期之生長累積溫度(growing degree day to flower)：由播種至小區中 50%植株達雄穗開花期間，每天平均氣溫減去 10℃之值，但當平均氣溫小於 10℃時，其值爲零(GDD ＝Σ[(〒)-10℃]，若每日〒＜ 10℃，則〒＝ 10℃)，即爲達開花之累積溫度，以℃-day 表示。

(13)總葉數(total leaf number)：於雄穗抽出後，每小區逢機 10 株，調查單株之平均總葉數，以 No./plant 表示。

(14)頂穗節位(top ear node)：雌穗吐絲後，每小區逢機 10 株由頂端往下數，最上位雌穗所在之平均節位。

(15)穗數(ear number)：係指小區中所有植株有花絲吐出之雌穗的平均值。

(16)單株葉面積(leaf area per plant)：由頂端往下數第八片葉的長度與最寬部位之寬度的乘積，再乘以 0.75 及 9.39 所獲得的 cm^2 數值[11]。

(17)百粒重(100-kernel weight)：生理成熟期果穗烘乾之籽粒，逢機取 100 粒，秤其重量，以 g 表示。

所得之數據進行變方分析及平均值顯著性比較。

結　果

一、台南白族群內自交系組合力檢定

由八個不同地點台南白族群各自自交分離至 S_4 之自交系，每一族群 根據植株外觀整齊度 、株型、穗型及果穗大小各選留四個，以 CIMMYT 引進具有高一般組合力之自交系 CML76、CML84、CML93、CML98 及 CML104 當作檢定親(表 1)，於 1993 年秋作進行田間試驗，結果如表 2 所列。由彰化、台南、雲林、桃園、台東、台中、屏東及花蓮所蒐集之族群分離 至 S_4 之自交系，經上述 5 個檢定親之測交檢定結果，顯示各個族群內之 自交系其含苞葉果穗鮮重與果穗鮮重之表現有差異，再根據幼苗整齊度，數值較小者爲佳、株高及穗位高較矮爲宜、且果穗率較大者爲優等原則 綜合判斷後，各族群僅選留一個作爲族群間組合力分析之用，獲選的自交系分別爲 TNWA-3、TNWB-1 、TNWC-2、TNWD-2、TNWE-4、TNWF-1、TNWG-4、TWH-4，如表 2 所列，其代號分別以台中(TNW A) 、台南(TNW B)、 雲林(TNW C)、桃園(TNW D)、台東(TNW E)、彰化(TNW F)、屏東(TNW G)及花蓮(TNW H)表示之，作爲不同地區台南白族群間比較之材料。

表 1. 23 個檢定親之系譜之粒型

Teble 1. Pedigree and kernel type of 23 inbred stesters.

Inbreds	Pedigree	Kernel type
CML 76	TL89A-1477-7	Flint
CML 84	TL90B-6365-42	Flint
CML 93	TL91-1451-77	Flint
CML 98	TL88B-6463-15	Dent
CML104	TL88A-1427-77	Dent
CML195	Z-101254	Semi-Dent
CML202	Z-97241	Semi-Dent
CML208	Z-101378	Semi-Dent
CML209	Z-97287	Semi-Dent
CML210	Z-97288	Semi-Dent

（續表 1）

CML211	Z-97292	Semi-Dent
CML212	Z-97294	Semi-Dent
CML213	Z-97297	Semi-Dent
CML218	B-34085	Flint
CML219	B-34104	Flint
CML221	B-33870	Flint
CML222	B-34150	Flint
CML231	B-34233	Dent
CML232	B-34238	Dent
CML234	B-34277	Dent
CML235	B-34281	Dent
CML236	B-34032	Flint
CML238	B-34038	Flint

表 2. 臺南白玉米族群分離之自交系以 5 個 CIMMYT 之自交系當檢定親，各項農藝性狀之組合力檢定成績

Table 2. Combining ability test of inbrids derived from TNW populations, using CIMMYT inbreds as testers, evaluated in fall of 1993.

Inbreds	Sites	Uniformity of seedlings (1-3)	Days to tasseling (day)	Days to siling (day)	Plant height (cm)	Ear height (cm)	Fresh weight of ear with husk (kg/5 ear)	Ear fresh weight (kg/5 ear)	Ear percent (%)
TNW A-1	TC [y]	2	60	63	255	128	1.21	0.77	63.9
A-2		2	59	61	224	111	1.26	0.79	62.6
A-3 [z]		1	60	62	234	100	1.48	0.95	64.5
A-4		2	61	63	240	110	1.25	0.79	63.1
TNW B-1 [z]	TN	1	58	61	213	87	1.38	0.91	66.3
B-2		1.3	59	60	250	133	1.23	0.79	64.8
B-3		1	58	60	215	107	1.20	0.78	65.5
B-4		1.5	59	61	227	110	1.20	0.77	64.7
TNW C-1	YL	1.5	59	61	205	110	1.26	0.86	66.4
C-2 [z]		1.5	59	62	207	90	1.49	0.91	65.8
C-3		1	59	62	230	113	1.37	0.87	63.5
C-4		1.5	59	62	227	118	1.27	0.88	67.8
TNW D-1	TY	1	59	61	217	100	1.34	0.85	63.7
D-2 [z]		1	59	61	225	98	1.47	0.96	65.1
D-3		1	58	61	223	115	1.29	0.86	67.0
D-4		1.5	60	63	240	105	1.27	0.81	64.1

（續表 2）

TNW E-1	TT [y]	2	62	66	227	95	1.33	0.83	62.5
E-2		1	61	64	235	120	1.03	0.69	67.3
E-3		1	64	66	220	105	1.41	0.76	63.1
E-4 [z]		2	59	61	215	103	1.29	0.90	64.8
TNW F-1 [z]	CH	1	60	62	223	95	1.40	0.91	65.3
F-2		1.7	61	62	235	100	1.26	0.80	63.1
F-3		1.7	61	64	243	115	1.21	0.78	64.9
F-4		2	59	62	245	105	1.22	0.77	63.3
TNW G-1	PT	2	60	61	238	110	1.18	0.83	69.8
G-2		1	60	63	230	110	1.33	0.89	67.3
G-3		1.5	61	62	230	113	1.38	0.94	67.0
G-4 [z]		1	60	62	225	105	1.61	1.09	67.8
TNW H-1	HL	2	60	62	195	105	1.22	0.77	60.5
H-2		1.4	61	64	240	127	1.23	0.76	62.2
H-3		1	61	64	236	118	1.28	0.82	64.2
H-4 [z]		1	60	63	240	98	1.47	0.94	64.1
Total mean		1.4	60	62	228	108	1.30	0.84	65.1
LSD0.05		0.4	1.3	1.5	16	11	0.14	0.11	4.7

[z] Selected inbred.
[y] TC：Taichung, TN：Tainan, YL：Yunlin, TY：Taoyuan,
TT：Taitung, CH：Changhua, PT：Pingtung, HL：Hualien.

二、獲選台南白自交系本身性狀的變異

由上面組合力檢定後獲選之台南白自交系，經田間調查自交系本身 之性狀，結果顯示其粒型有硬粒型及馬齒型兩類，達到雄穗開花期之生長累積溫度介於 726～835 ℃-day 之間，株高介於 129～184cm，穗位高介於 57～98cm，葉片數介於 14.1～16.7 之間，頂穗節位介於 5～6.7 之間 ，單株葉面積介於 4,027～6,331cm^2 之間，行數 8～14 行，百粒重介於 22.0 ～35.8g ，由此可知經由組合力檢定所選留之自交系，不同族群而來的自交系之間，其外表性狀有遺傳變異存在(表 3)，可供爲族群間自交系組合力檢定之用。

表 3. 八個臺南白自交系之系譜及各項農藝性狀之平均值

Table 3. Pedigree and characters description of inbreds derived from eight TNW populations.

Pedigree	Sites	Kernel type	Growing degree day to flower (°Cday)	Plant height (cm)	Ear height (cm)	Total leaf number (No.)	Top ear node (No.)
A 80TNW 7	TC[z]	Dent	779	155±11	63± 6	17.7±0.7	6.1±0.3
B 81TNW6-3-1-1	TN	Flint	726	154±10	78± 6	15.9±0.9	6.7±0.5
C 81TNW34-1-2-1	YL	Dent	779	146±11	67± 8	16.1±0.6	6.5±0.7
D 81TNW80-1-2-2	TY	Flint	800	160±10	77±10	14.1±0.6	5.0±0.5
E 81TNW197-1-1-1	TT	Flint	779	184±11	98±10	16.7±1.2	6.5±0.5
F 81TNW103-1-2-2	CH	Flint	779	129± 6	87± 7	15.5±0.8	6.7±0.5
G 81TNW208-1-3-3	PT	Dent	800	132±11	61±12	14.7±1.2	5.5±0.5
H 81TNW219-2-1-1	HL	Flint	835	148± 8	60± 8	15.2±0.4	6.4±0.7

(續表 3)

Pedigree	Sites	Ear number (No.)	Leaf area (c㎡/plant)	Ear length (cm)	Row number (No.)	100-kernel weight (g)
A 80TNW 7	TC[z]	1	4,509	14	8	33.6
B 81TNW6-3-1-1	TN	2	4,358	16	8	25.5
C 81TNW34-1-2-1	YL	2	4,027	14	12-14	22.0
D 81TNW80-1-2-2	TY	2	4,375	11	8	29.7
E 81TNW197-1-1-1	TT	2	6,331	18	8	35.8
F 81TNW103-1-2-2	CH	2	4,470	14	8	27.8
G 81TNW208-1-3-3	PT	2	4,993	17	8-10	29.2
H 81TNW219-2-1-1	HL	1	4,144	15	8	29.1

[z] TC：Taichung, TN：Tainan, YL：Yunlin, TY：Taoyuan,
TT：Taitung, CH：Changhua, PT：Pingtung, HL：Hualien.

三、台南白族群間自交系組合力檢定

由上述經組合力檢定後，8 個族群中選留之自交系，在 1994 年春作 ，再以 CIMMYT 引進之 18 個自交系爲檢定親(CML195～CML238, 見表 1)， 進行族群間自交系組合力檢定，結果顯示檢定親(外來自交系)、受檢親 (台南白族群之自交系)及其測交種之間所調查的農藝性狀經變方分析， 結果均達極顯著差異(表 4)，表示受檢親及檢定親自交系之間其一般組 合力有遺傳上的差異，同時 F_1 測交種之特殊組合力也呈極顯著之差異。

表 4. 八個臺南白受檢親與十八個 CIMMYT 自交系爲檢定親進行組合力檢定，各項農藝性狀變方分析之均方值
Table 4. Mean squares for agronomic characters of 18 CIMMYT testers×8TNW inbred lines analysis.

Source	DF	No. of tillers	Plant height	Ear height	Fresh weight of ear with husk	Ear fresh weight	Ear perecnt	Ear length	Kernel row
Block	1	0.011	0.58	0.17	208	122	0.01	0.57	0.01
Group A	7	1.612**	5,217.29**	1,893.80**	43,618**	13,143**	312.41**	65.21**	18.01**
Group B	17	1.279**	4,157.20**	3,222.17**	5,096**	4,967**	309.71**	15.99**	6.29**
A×B	119	0.248**	260.15**	185.37**	2,480**	1,240**	53.90**	3.78**	1.74**
Error	143	0.032	13.95	3.49	52	28	4.65	0.28	0.16

** Significant at 0.01 probability level.

進一步由其平均値(表 5)比較可看出，在含苞葉果穗鮮重，不同地 區台南白自交系之表現以TNW G、TNW H 及 TNW E 三者之一般組合力表現較佳，同時穗長之表現也以 TNW E、TNW G 及 TNW H 三者具有較長之果穗，再由其他性狀之表現也可看出所選留台南白自交系間其一般組合力有明顯差異。而所使用的檢定親，其農藝性狀之一般組合力也有明顯的差異，可以有效鑑別出不同族群間台南白自交系組合力的優劣。另外由測交種之果穗鮮重的表現，也可以看出 F_1 測交種之特殊組合力也有極大變異存在(表 6)。綜合各性狀組合力檢定之結果，顯示由不同地區台南白分離所獲自交系之農藝性狀組合力具有遺傳變異存在。

表 5. 臺南白自交系（受檢親）與 CIMMYT 自交系（檢定親）各項農藝性狀之一般組合力成績
Table 5. General combining ability for agronomic charactes of 18 CIMMYT testers and 8 TNW inbred lines growing in sping of 1994.

Genotype	No. of tillers (No./plant)	Plant height (cm)	Ear height (cm)	Fresh weight of ear with husk (g/ear)	Ear fresh weight (g/ear)	Ear percent (%)	Ear length (cm)	Kernel row (No./ear)
Inbred [z]								
A	0.44	206.7	103.2	180.4	119.3	65.5	16.90	10.94
B	0.92	201.8	105.1	180.2	121.8	67.3	17.26	10.52
C	0.64	199.7	106.5	186.2	117.7	62.6	16.51	12.02
D	0.91	207.7	112.3	196.8	127.6	65.3	17.01	10.52
E	1.01	225.0	114.7	221.3	140.2	63.5	18.94	10.50
F	0.99	200.3	98.8	171.2	106.7	61.3	16.39	9.58
G	0.57	227.3	121.8	272.1	168.4	60.3	20.30	11.30
H	0.76	225.3	110.7	235.6	139.6	58.5	17.48	10.69

（續表 5）

LSD0.05	0.08	1.7	0.8	3.3	2.5	1.0	0.24	0.18
Tester [y]								
CML195	1.34	224.9	112.3	257.8	158.0	61.1	17.80	11.31
CML202	0.23	218.1	116.0	227.7	150.9	66.1	18.66	10.50
CML208	0.71	240.0	141.5	202.6	129.4	64.6	19.81	10.43
CML209	0.86	240.6	128.0	203.8	120.1	58.7	17.86	10.06
CML210	1.01	223.1	126.0	203.8	135.0	66.8	18.57	11.00
CML211	1.21	210.1	104.8	165.5	92.6	57.0	17.34	10.56
CML212	0.70	210.2	103.5	200.7	111.3	55.4	16.20	10.25
CML213	0.69	205.1	103.3	180.8	110.8	60.5	16.28	10.62
CML218	0.57	205.4	104.3	198.8	125.0	63.6	17.30	10.93
CML219	0.75	211.8	112.7	213.8	141.6	67.3	18.38	10.56
CML221	0.81	205.8	99.3	212.0	138.7	65.4	17.18	10.06
CML222	0.72	220.8	113.8	196.4	119.5	60.5	17.67	10.12
CML231	0.61	204.5	93.3	204.0	134.0	61.0	16.58	10.81
CML232	1.30	189.7	93.1	199.6	118.3	58.9	16.80	10.62
CML234	0.55	189.1	93.4	224.4	164.0	72.7	18.06	12.12
CML235	0.84	196.8	97.6	194.1	130.7	67.3	16.36	10.93
CML236	0.56	228.8	127.3	202.5	122.3	61.0	18.06	10.50
CML238	0.60	185.8	94.3	210.1	140.3	66.8	16.94	12.30
LSD0.05	0.12	2.6	1.3	5.0	3.7	1.5	0.37	0.28

[z] tested genotype value are 18 testcrosses average.

[y] tested genotype value are 8 testcrosses average.

表 6. 臺南白自交系與 CIMMYT 自交系雜交之 F_1 雜種果穗鮮重的特殊組合力成績

Table 6. Specfic combining ability for ear fresh weight (g/ear) of CIMMYT testers, TNW inbred lines and CIMMYT×TNW hybrids, planted in spring of 1994.

Inbreds / Tester	A	B	C	D	E	F	G	H	Mean
CML195	193.0	155.5	110.5	137.0	179.0	161.0	198.5	129.5	158.0
CML202	135.0	137.0	143.0	142.5	154.5	126.0	179.0	190.5	150.9
CML208	104.5	139.0	163.0	147.5	117.0	116.0	112.5	135.5	129.4
CML209	146.0	124.0	137.5	120.5	120.5	63.0	151.5	98.0	120.1
CML210	100.0	118.5	100.5	141.5	134.0	122.0	196.5	167.0	135.0
CML211	101.5	110.5	75.5	70.0	110.5	88.5	125.5	59.0	92.6
CML212	97.5	78.0	104.0	115.0	143.5	84.5	121.5	147.0	111.3
CML213	126.0	86.0	81.0	82.0	129.5	87.0	177.0	118.0	110.8
CML218	108.0	115.5	104.5	142.0	141.0	81.5	165.0	143.0	125.0

（續表 6）

CML219	119.5	128.5	125.0	118.0	161.0	107.5	235.5	138.0	141.6
CML221	106.0	135.0	140.5	189.0	119.0	126.0	152.0	142.5	138.7
CML222	125.5	138.5	86.0	94.0	130.0	69.5	147.5	165.5	119.5
CML231	103.0	108.5	120.5	112.0	134.5	144.5	196.5	152.5	134.0
CML232	129.5	110.5	76.0	89.5	145.5	117.5	167.0	112.0	118.3
CML234	178.0	109.5	194.0	175.5	177.5	104.0	224.5	149.5	164.0
CML235	57.0	119.5	102.5	141.5	115.5	122.0	212.0	176.0	130.7
CML236	111.5	125.5	107.0	129.5	144.5	68.5	154.5	138.0	122.3
CML238	10.65	154.5	148.5	145.5	167.0	132.0	116.0	152.0	140.3
Mean	119.3	121.8	117.7	127.6	140.2	106.7	168.4	139.6	

LSD0.05 = 9.6 for CIMMYT×TNW hybrids.
LSD0.05 = 2.5 for TNW inbreds lines means.
LSD0.05 = 3.7 for CIMMYT inbreds tester means.

討　論

台灣鮮食用玉米，除了甜玉米當作蔬菜用外，另有水煮或碳烤的白玉米，其栽培品種以台南白爲主，因具有特殊的口感和風味，雖未曾刻意加以推廣，卻一直受廣大的消費者所喜愛。由謝與曾[4]之結果，已知不同地區台南白族群間及族群內農藝性狀均具有很大的變異，實爲一理想的育種材料。

進行自交系的分離與組合力檢定爲台南白育種之重要問題，以具有遺傳變異的台南白族群當鮮食用育種材料，欲育成性狀整齊的F_1雜種，必須先把異型結合體的植株，經自交過程育成自交系。以自交法可以快速在短期內育成同型結合體之自交系[8]。而經自交至 S_4或 S_5的自交系，外表性狀漸趨整齊，此時自交系組合力的好壞不易從外表看出，須進行組合力檢定，一般自交系組合力的檢定，可選擇遺傳基礎較廣之天然授粉品種、合成品種、雙雜交種，進行頂交 (top cross)，淘汰大部份組合力較差之自交系，再以單交或測交法選出較優的雜交組合。如以遺傳背景較廣的品種爲檢定親，通常其雜交株數及種植面積均要較大，且只能檢定受檢親之一般組合力而已；但若以幾個自交系當作檢定親進行受檢親(自交系)之組合力檢定，每一組合僅須雜交 1-3 穗就有足夠的種子，且同時可檢測一般及特殊組合力的大小。Horner *et al.*,[10]以自交系、單交種及合成品種爲花粉親，進行自交系組合力檢定，結果顯示籽粒產量的表現，在三種不同型之檢定親間，並沒有差異存在。本研究以 CIMMYT 引進具有高一般組合力的自交系當檢定親，進行不同地區台南白族群內自交系之組合力檢定，經檢定結果，所選留的自交系間(TNW A-TNW H)，其一般組合力與 F_1 測交種之特殊組合力之表現均具有顯著的遺傳差異存在，亦即利用多個自交系當檢定親可以很有效的檢測出自交系一般組合力的高低，同時也可檢測 F_1 雜種的特殊組合力大小。本試驗之結果與 Charcosset *et al.*[5]、Comstock[6]與 Darrah *et al.*[7]認爲以自交系當檢定，可以很有效的鑑別出自交系組合力的大小之結果相符合。由於所選之不同地區台南白之自交系具有遺傳變異存在，可供進一步遺傳分析及育種上產量雜種優勢模式群探討之材料。

引用文獻

1. 張世融、盧虎生、黃懿秦、朱鈞。1994。不同地區台南白玉米貯藏性蛋白質(Zein)之含量與變異。中華農藝 4：129-135。
2. 黃懿秦、楊文煌、曾美倉、謝兆樞。1990。不同地區之台南白玉米族 群間農藝性狀差異之比較。台大農學院研究報告 30(3)：52-59。
3. 楊文煌、黃懿秦、曾美倉、黃賢喜。1991。不同栽培環境對台南白玉米產量及農藝性狀之影響。中華農藝 1：293-308。
4. 謝光照、曾富生。1998。台灣不同地區台南白玉米族群性狀之變異。中華農業研究 47 (3)：204-219。
5. Charcosset,A., M. Lefort-Buson, and A.Gallais. 1990. Use of top-cross designs for predicting performance of maize single cross hybrids. Maydica 35：23-27.
6. Comstock,R.E. 1979. Inbred lines vs the population as testers in reciprocal recurrent selection. Crop Sci. 19：881-886.
7. Darrah, L.L., S.A.Eberhart, and L.H. Penny. 1972. A maize breeding methods study in Kenya. Crop Sci. 12：605-608.
8. Good, R.L., and A.R.Hallauer. 1977. Inbreeding depression in maize by self and full-sibing. Crop Sci. 17：935-940.
9. Horner,E.S., H.W.Lundy, M.C. Lutrick, and W.H.Chapman. 1973. Comparison of the three method of recurrent selection in maize. Crop Sci. 13：485-489.
10. Horner,E.S., W.H.Chapman, H.W.Lundy, and M.C.Lutrick. 1972. Commercial utilization of the products of recurrent selection combining ability in maize. Crop Sci. 12：602-604.
11. Pearce,R.B., J.J.Mock, and T.B.Bailey. 1975. Rapid method for estimating leaf area per plant in maize. Crop Sci. 15：691-694.
12. Zambezi,B.T., E.S.Horner, and F.G.Martin. 1986. Inbred lines as tester for general combining ability in maize. Crop Sci. 26：908-910.

Development and Evaluation of Inbred Lines Derived from Tainan-White Maize Population[1]

Guang-Jauh Shieh[2] and Fu-Sheng Thseng[3]

Summary

Determination of the relative combining ability of corn (Zea mays L.) inbred lines is an important feature of applied corn breeding program. Combining ability is measured by the relative performance of a line in testcrosses to one or more tester. CIMMYT inbred lines with white endosperm used as tester. The inbred lines were derived from different Tainan-White(TNW) populations,evaluated at S_4 generation. The results indicated significant differences existed respectively in the general and specific combining ability of agronomic characters among TNW inbred lines in intra-population or inter-populations.

Key words： Tainan-White, Maize, Inbred line, Combining ability test.

1. Contribution No. 1956 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Assistant Agronomist, Department of Agronomy, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Professor of Agronomy Department, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.

中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）47(4)：338～345（1998）

水稻臺農 67 號胚癒合組織之誘導及再生力研究[1]

夏奇鈮　王強生[2]

摘要：利用生物科技基因轉殖技術可加速植物品種改良之腳步，而建立一穩定之高再生系統則是基因轉殖成功之先決條件。本試驗利用本省普遍栽培之水稻品種台農 67 號，以取得最容易之成熟種子為癒合組織材料來源，探討影響癒合組織再生能力之各項因子，以期提高其再生力，未來將利用此一再生系統進行水稻之基因轉殖。首先比較鹽類培養基對誘導癒合組織形成之影響，台農 67 號在 N6 鹽類培養基中比 MS 鹽類培養基有較高之癒合組織誘導率，台北 309、台中在來 1 號之癒合組織誘導率在這兩種鹽類培養基中並無差異。各品種癒合組織形成率分別為台北 309 之 94.6%、台中在來 1 號 80.5%、及台農 67 號 50.8%。胚狀細胞培養基中添加脯胺酸之研究顯示，脯胺酸處理對提高胚狀細胞之再生力有顯著影響。添加或不添加脯胺酸所誘導生成之胚狀細胞，繼代後再生力分別為 100%與 66.7%，顯示添加脯胺酸可保持胚狀細胞之高再生能力。提高培養基滲透壓以促進再生力之研究顯示，以凝固基質 agarose 10 g/l 處理有最高之再生力（41%），5 g/l phytagel（14.5%）其次，而以 bacto-agar 16 g/l 最差（0%）。碳源處理對再生力之影響，以麥芽糖 30 g/l 處理之再生力（20%）顯著較蔗糖（2.2%）或蔗糖加麥芽糖組合處理（0%）為高。培養細胞天齡對再生力影響之研究顯示，胚狀細胞隨著培養天齡之增加再生力逐漸降低，其中又以蔗糖為碳源之處理，再生力下降較為顯著，18 天齡胚狀細胞再生力為 87.5 %，42 天齡胚狀細胞再生力則只剩 40%；如以麥芽糖為碳源，42 天齡之胚狀細胞仍有 95%之再生力。因此對較高天齡之胚狀細胞，建議採用麥芽糖為再生培養基之碳源，可得較高之再生力。本試驗比較兩種促進芽體生長之培養基 N6 salt + kinetin vs. MS salt + BA，在芽體抽長率及分櫱平均數上兩培養基並無顯著差異。

關鍵詞：水稻、癒合組織誘導、芽體再生。

前　言

水稻是全球最重要的糧食作物，累積有許多有關細胞再生之研究，歸納這些研究中影響水稻細胞再生較重要之因子有：品種或基因型，培植體來源（莖基部、花藥、成熟胚、未成熟胚），培養基（鹽類、醣類、凝固基質），培養時間等[2,7,8,14,16,17]。常被使用來提高培植體再生力之方法包括：水分逆境處理如乾燥失水[15,19]、高滲透壓培養基添加醣醇或提高凝固基質濃度[9,12,18]、改變碳源[1]及添加氨基酸[3]等。以培植體的再生力而言，花藥及未成熟胚雖較其他培植體有較高之再生力[2,4,11,14,20]，然而在材料的供應上有很大的限制，站在農業研究機關之立場，我們最後之目標為生產基因轉殖水稻，因此利用

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1957 號。
2. 本所農藝系助理研究員、副研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

隨時且可大量取得之成熟種子爲材料，可增加未來被利用在轉殖系統之可行性；早期之細胞再生研究常以再生力較高之品種爲主[16]，然而這些高再生力之品種往往並非廣泛栽培之優良品種，因此減低了這些再生研究在基因轉殖上之應用性；台農 67 號是目前台灣普遍栽培的水稻品種，栽培歷史悠久具有許多優良的食用及農藝栽培性狀，值得我們深入瞭解其細胞再生培養之各種特性，以便提高其再生力進而建立其基因轉殖系統，未來利用此一基因轉殖系統可將各種抗病、抗蟲、及特殊成分之基因導入，提高其附加價值增加農民收益。本報告以台農 67 號成熟種子誘導生成之癒合組織爲再生材料，針對上述影響再生之各項因子加以測試比較，以做爲日後改進台農 67 號水稻品種再生系統之依據。

材料與方法

台農 67 號之成熟種子去殼後以稀釋 2 倍之 Clorox（5.25% NaOCl）溶液消毒 30 mins, 再以無菌水清洗 3 次。基本培養基爲 N6 鹽類添加 MS 維生素、30 g/l 蔗糖與 3 g/l phytagel。自種子胚盤處長出具胚分化能力之癒合組織（胚狀細胞）將做爲繼代或再生試驗之用。除試驗一使用不同的品種外，其餘試驗皆以台農 67 號爲材料。

一、 比較 N6[4]與 MS[13] 鹽類培養基對癒合組織形成之影響

本試驗以台中在來 1 號、台北 309 與台農 67 號之成熟種子經無菌消毒後，植入含有 2 mg/l 2,4-D 之 N6 或 MS 基本培養基置於暗處培養，其中 MS 培養基並添加 10%椰子水，觀察由成熟種子誘導癒合組織之生長及分化情形。

二、脯胺酸對胚狀細胞再生力之影響

將 35 天齡之癒合組織置於胚分化培養基上培養，胚分化培養基爲上述基本培養基添加 300 mg/l casein hydrolysate, 與 1 mg/l 2,4-D，以促進胚狀細胞之分化。並以添加或不添加 1.15 g/l （10 mM）脯胺酸處理之。經 15 天暗培養後所產生之胚狀細胞，移至下述再生培養基於 16 小時光照環境下繼續培養，經 15 天後調查再生率（產生綠點之胚狀細胞百分比）。基本再生培養基爲 N6 鹽類添加 MS 維生素及 100 mg/l inositol、1 mg/l thiamine、2 mg/l kinetin、0.1 mg/l NAA、45 g/l 蔗糖與 5 g/l phytagel。

三、不同凝固基質與碳源對水稻胚狀細胞再生力之影響

除糖與凝固基質各處理不同外，基本之再生培養基同上所述。比較凝固基質試驗中，蔗糖濃度固定爲 30 g/l，凝固基質之種類及所使用之濃度則如表 2。比較碳源（蔗糖、麥芽糖各 30 g/l 及兩種糖之組合）之試驗中凝固基質均爲 5 g/l phytagel。本試驗以 77 天齡之胚狀細胞作爲材料，經 3 週培養後調查再生率。

四、不同天齡胚狀細胞再生力之比較

基本再生培養基以 10 g/l agarose 爲凝固基質，碳源則分別爲 30 g/l 麥芽糖及 30 g/l 蔗糖。比較由成熟種子分化而來之不同天齡胚狀細胞其（18、42、98、138、238、266 天）再生力之變化。

五、再生芽體生長培養基之比較

再生苗生長培養基（N）爲上述基本培養基（N6）添加 2 mg kinetin 及 0.1 mg NAA。再生苗培養基（M）爲 MS 鹽類添加 1 mg/l BA 及 8 g/l bacto-agar，其他成分則與培養基 N 相同。胚狀細胞經二週再生培養後，移至再生苗生長培養基 N 或 M，經三週培養後調查大於 1 cm 再生苗產生之百分比及每個胚狀細胞培植體上之平均芽數。

六、 統計方法

試驗所得數據利用 SAS 程式計算分析其結果，經變方分析後若處理效果顯著，則利用最小顯著性測驗(LSD, least significant difference) 在 5%顯著差異水準下進行平均值顯著性測驗。

結果與討論

一、比較 N6 與 MS 鹽類培養基對癒合組織形成之影響

品種（台中在來 1 號、台北 309 與台農 67 號）及培養基鹽類（N6、MS 培養基）對癒合組織形成之影響皆顯著（資料未列出）。如各品種分開來看，台中在來 1 號與台北 309 對培養基鹽類之選擇並不顯著；台農 67 號則以 N6 培養基較 MS 培養基爲佳。各品種癒合組織形成率如表 1，平均形成率爲台北 309 之 94.6%、台中在來 1 號 80.5%及台農 67 號 50.8%。

表 1. 不同鹽類培養基對水稻品種胚癒合組織形成之影響

Table 1. Effect of medium salt formulation on callus induction of three rice varieties.

Salt formulation [z]	Callus formation % [y]		
	Variety		
	Taichung native 1	Taipei 309	Tainung 67
N6	82±9.8[a]	93±4.4[a]	63±10.3[a]
MS	79±6.7[a]	96±6.3[a]	39±17.8[b]

[z] Basal medium containing N6 or MS salts with 2 mg/1 2, 4-D, 30g/l sucrose and 3g/l phytagel.

[y] Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5 % level by LSD test.

誘導水稻胚形成癒合組織所採用之培養基相當廣泛，MS、N6、 B5 及改良後之 MS、White 培養基皆曾被使用，顯示誘導水稻癒合組織之生成並不困難[5]。雖然如此，仍有報告指出水稻不同品種、基因型癒合組織形成能力有極大差異[11,17]。本試驗以本省栽培面積最廣之台農 67 號、再生能力較高之台北 309、及秈稻品種台中在來 1 號進行比較。台中在來 1 號與台北 309，一爲秈稻一爲稉稻品種，但在試驗所採用的兩種不同鹽類培養基上，癒合組織形成率並無顯著差異；台農 67 號與前述兩品種相較，癒合組織形成率較低，鹽類培養基對癒合組織形成率之影響亦較顯著，其中以 $N0_3^-/NH_4^+$較高之 N6 培養基對癒合組織形成有促進之效果。台農 67 號雖爲優良栽培品種，但其癒合組織形成率與參試之其他兩品種相較並不高，這也說明了爲什麼在水稻再生研究中，台農 67 號不如台北 309 被普遍採用之原因。而台北 309 胚狀癒合組織之高形成率則使其成爲水稻再生研究中經常被採用之材料[16]；根據本試驗之結果，不同品種在鹽類培養基的選擇上並非絕對，品種本身癒合組織的生成能力才是造成差異之最大原因，因此對癒合組織形成力較低之品種，找出該品種最適當之培養基，利用其與不同培養基間的交感提高其形成或再生力。

二、脯胺酸對胚狀細胞再生力之影響

添加脯胺酸對胚狀細胞再生力結果顯示有顯著之影響，自添加脯胺酸培養基上所產生之胚狀細胞再生率可達 100%；而取自未添加脯胺酸處理所生成之胚狀細胞再生力爲 66.7%，兩者間差異顯著（5% 顯著水準）。水稻胚狀細胞之長期培養一直是亟待突破之問題，因爲隨著胚狀細胞繼代次數的增加亦即培養細胞天齡的增加其再生力逐漸下降[14,20]。前人研究指出有機態氮源可提高水稻之再生力，培養基中添加胺基酸有助於水稻細胞之再生[3]。Liu and Lai (1991) 之研究發現經水分逆境處理後，高再生力、及低再生力品種之水稻細胞其脯胺酸含量皆有增加，但高再生力培植體之脯胺酸含量爲低再生力品種之兩倍，顯示高、低再生力水稻品種間，內生性脯胺酸確有不同。本試驗亦證實外加之脯胺酸可維持或促進胚狀細胞之再生力，此結果與 Chowdhry *et al.* (1993) 之研究結果相同，亦即雖然添加脯胺酸對促進癒合組織的形成不顯著，但可明顯促進其後胚狀細胞之分化或延遲胚狀細胞分化力之降低，

並反應於再生力之提高，因此 Chowdhry *et al.* 推測某些胺基酸之合成可能爲器官分化或體胚再生所需。

三、比較不同凝固基質、碳源對促進水稻胚狀細胞再生力之影響

本試驗將一般胚狀細胞培養所使用凝固基質濃度加倍，以增加再生培養基之滲透壓，結果顯示凝固基質處理對再生率有顯著影響達 1%顯著水準，其中以 agarose 10 g/l 再生效果最好達 41%，5 g/l phytagel 之 14.5%次之，而以 bacto-agar 16 g/l 爲凝固基質之再生力最差爲 0%（表 2）。碳源處理對再生力之影響亦達 1%之顯著水準，麥芽糖處理之再生率 20%比蔗糖處理之 2.2%或蔗糖加麥芽糖組合之 0%爲佳（表 2）。在這兩個試驗中，凝固基質試驗中之 phytagel 處理與碳源試驗中之單獨蔗糖處理，有完全相同之配方（30 g/l 蔗糖，5g/l phytagel），雖然結果顯示單獨蔗糖處理之再生率較低（2.2% vs. 14.5%），但兩處理在統計上並無顯著差異。Lai and Liu (1988) 指出高再生力水稻品種較低再生力品種之癒合組織水分含量低 10%，此結果呼應於同樣 Liu and Lai (1991) 之研究，提高再生培養基之滲透壓，以降低細胞之水分含量，可促進水稻細胞之再生。Etienne *et al.* (1991) 之研究亦認爲培養細胞之相對水分含量與水分潛勢是胚分化的指標。一般而言，水分逆境處理可利用失水、高滲透壓培養基，如提高凝固基質濃度或添加醣醇來達成，在碳源試驗中之蔗糖加麥芽糖處理，理論上具有較高之培養基滲透壓，但對再生力並無提高之效果，因爲本研究在提高凝固基質濃度及碳源處理試驗中，並未測定各處理間培養細胞之水分潛勢，因此對三種凝固基質與碳源處理所造成之水分逆境在培養細胞水分潛勢上之影響無法加以比較。綜合此二試驗之結果，推測碳源處理可提高再生力之作用機制，可能非僅影響培養細胞之水分含量而已，再生試驗中經由水分逆境或醣類代謝不同之處理，最後導致相同結果（提高再生力），其間引發之相同或不相同之連鎖反應，則值得我們做進一步探討。

表 2. 比較凝固基質、碳源處理對臺農 67 號胚癒合組織再生之影響

Table 2. Effect of gelling agents and source of carbohydrate on regeneration of rice cv. Tainung 67 embryogenic callus.

Gelling agent (g/l) [z]	Regeneration (%) [y]
Agarose 10	41.0[a]
Bacto-agar 16	0.0[c]
Phytagel 5	14.5[bc]
Carbohydrate (g/l)	
Sucrose 30	2.2[bc]
Maltose 30	20.0[b]
Sucrose 30 + maltose 30	0.0[c]

[z] Basal medium containing N6 salts, MS vitamins, 2mg/l kinetin and 0.1 mg/l NAA with 30g/l sucrose for the gelling agent experiment and 5g/l phytagel for the source of carbohydrate experiment, respectively.

[y] The different letters indicate significantly different at the 5 % level by LSD test.

四、不同天齡胚狀細胞再生力之比較

在兩種不同碳源（蔗糖、麥芽糖）之再生培養基中，再生力皆隨著胚狀細胞天齡之增加而降低，其中又以蔗糖爲碳源之處理其平均再生力較低，再生力遞減之情形亦較顯著，42 天齡胚狀細胞再生力僅及 18 天齡胚狀細胞之半（87.5% vs. 40%）（表 3），以麥芽糖爲碳源之再生培養基中，42 天齡胚狀細胞仍可維持 95%之再生力，對較高天齡之胚狀細胞（98、138、238、266 天）在麥芽糖爲碳源之

再生培養基中，其平均再生力亦較蔗糖培養基爲高。培養天齡較少之胚狀細胞（18 天），二種碳源處理間並未對再生力造成顯著差異（表 3）。對天齡較少之胚狀細胞而言，因其具較高之再生力，碳源處理之影響效果並不顯著；對經過數次繼代、培養時間較久之高天齡胚狀細胞而言，改變再生培養基中之碳源，對促進再生力則有顯著之效果。綜合來看，顯示再生力高之幼齡胚狀細胞，碳源種類影響並不顯著，而麥芽糖具有提高（或維持）高天齡胚狀細胞再生力之效果。此外本試驗中不同天齡之胚狀細胞養成於不同之時間，爲改進材料批次間可能之不均質性，我們改以同一時間誘導之胚狀細胞，經長期培養並持續調查其再生力變化之情形，亦有相同結果（資料未列出）。Asano *et al.* (1994) 以 35 月齡之 japonic rice 培養細胞爲材料，發現相對於蔗糖的 0%再生率，以乳糖或麥芽糖爲培養基碳源之處理，仍可得到 2-4%之再生率，因此推論再生力之下降，部分原因可能是因爲培養條件之不適，而非完全受遺傳基因（老化）調控之改變。本試驗中麥芽糖與蔗糖處理提供相同之滲透壓，因此滲透壓引起細胞水分含量改變之理論並不足以解釋麥芽糖對高天齡培養細胞再生力提高之現像。如果將胚狀細胞長期培養於含麥芽糖代替蔗糖之培養基，再以含蔗糖之再生培養基培養，比較其再生力之變化，或可探討 1. 麥芽糖碳源究竟是提高再生力還是延緩再生力之降低 2. 單純培養基醣類改變之刺激或是特定醣類在一定之生長發育階段具有特別之促進作用 3. 胚狀細胞再生力之降低僅受天齡之影響（遺傳基因調控），這些都是我們日後要繼續探討之問題。

表 3. 不同天齡胚癒合組織再生力之比較

Table 3. The influence of aging of embryogenic callus on regeneration of rice cv. Tainung 67.

Age of embryogenic callus (day-old)	Regeneration Frequency (%) [z]	
	Sucrose	Maltose
18	87.5[a]	87.5[a]
42	40[b]	95[a]
98	0[c]	42.5[b]
138	10[c]	37.5[b]
238	17.5[c]	45[b]
266	2[c]	27.5[b]

[z] The different letters indicate significantly different at the 5 % level by LSD test.

五、再生芽體生長培養基之比較

水稻細胞培養之再生力，常以具綠點胚狀細胞之百分比，並記錄長成綠色幼苗之比率爲參考 (1)，主要原因爲這些綠點胚狀細胞未必能全部都能長成幼苗，因此如能提高芽點胚狀細胞長成植物體之比率，對再生力之提高有相同之重要性。比較兩種芽體生長培養基，以 N6 鹽類爲主之培養基 N，其芽體抽長百分比爲 21.2%、平均分櫱數爲 1.9；以MS鹽類爲主之培養基M，其芽體抽長百分比爲 11.8%、平均分櫱數爲 1.0（表 4）。雖然培養基N有較高之芽體抽長率，且芽體亦具有較多之分櫱數，但在統計上這兩種培養基差異並不顯著。如果追溯先前再生培養基的影響（麥芽糖處理有較高之再生率），以蔗糖爲碳源之培植體處理在 N 培養基有 15.6%芽體抽長率，在 M 培養基有 8%芽體抽長率，以麥芽糖爲碳源處理之培植體在N培養基有 27.5%芽體抽長率，在M培養基有 17.1%芽體抽長率。考慮先前再生培養基造成培植體生理狀態的改變，因此將不同再生培養基而來之培植體分開統計，雖然在數字上 N 培養基比 M 培養基較佳，但仍未達顯著水準，培植體個別差異大亦爲原因之一。在分櫱平均數

上兩培養基並無差異，亦即所使用之 2 mg/l BA 或 1 mg/l kinetin 在促進分蘗效果上並無不同。Asano *et al.* (1994)指出含麥芽糖之培養基不僅誘導再生，且毋須再繼代至含蔗糖之培養基，芽體可直接抽長，因此推論麥芽糖可能是主要營養源，可直接用於植物體之代謝，而本試驗之兩培養基均以蔗糖爲碳源，因此在此一觀點上無法加以比較。

表 4. 再生芽體生長培養基之比較

Table 4. Comparison two media on elongation regenerants of rice cv. Tainung 67.

Regenerant	Elongation medium			
	N [z]		M [y]	
from medium containing	Elongated shoot %	Mean shoots/ explant	Elongated shoot %	Mean shoots/ explant
Sucrose	15.6	1.8	8.0	0.6
Maltose	27.5	2.0	17.1	1.6
Mean [x]	21.2[a]	1.9[a]	11.8[a]	1.0[a]

[z] Medium N: N6 salts with MS vitamins, 100mg/l inositol, 1 mg/l thiamine, 2mg/l kinetin, 0.1mg/l NAA, 30g/l sucrose and 3g/l phytagel.

[y] Medium M: Same as medium N except using MS salts with 1mg/l BA and 8g/l bacto-agar.

[x] The different letters indicate significantly different at the 5 % level by LSD test for each percentage of elongated shoot and mean number of shoots per explant.

引用文獻

1. Asano, Y., Y. Ito, M. Ohara, K. Sugiura, and A. Fujiie. 1994. Improved regeneration response of creeping bentgrass and japonica rice by maltose and lactose. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 39：101-103.
2. Chen, C. C., H. S. Tsay, and C.R. Huang. 1991. Factors affecting androgenesis in rice. pp.193-215. in：Biotechnology in agriculture and forestry. Vol.14 Rice. (Bajaj, Y. P. S. ed.). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany.
3. Chowdhry, C. N., A. K. Tyagi, N. Maheshwari, and S. C. Maheshwari. 1993. Effect of L-proline and L-trytophan on somatic embryogenesis and plantlet regeneration of rice (*Oryza sativa* L. cv. Pusa 169). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 32：357-361.
4. Chu, C. C. 1978. The N6 medium and its application to anther culture of cereal crops. pp. 43-50. in：Proc Symp Plant Tissue Culture. (Hu, H. ed.) Science Press, Pecking, China.
5. Croughan, T. P., and Q. R. Chu. 1991. Rice (*Oryza sativa* L.)：Establishment of callus cultures and the regeneration of plants. pp.19-37. in：Biotechnology in agriculture and forestry. Vol.14 Rice (Bajaj, Y. P. S. ed.) Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany.
6. Etienne, H., A. Berger, and M. P. Carron. 1991. Water status of callus from Hevea brasiliensis during induction of somatic embryogenesis. Physiol. Plant. 82：213-218.
7. Finch, R. P., A. Baset, I. H. Slamet, and E. C. Cocking. 1992. In vitro shoot culture of wild *Oryza* and other grass species. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 30：31-39.
8. Hartke, S., and H. Lorz. 1989. Somatic embryogenesis and plant regeneration from various indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. Genet. & Breed. 43：205-214.
9. Jain, R. K., S. Jain, and R. Wu. 1996. Stimulatory effect of water stress on plant regeneration in aromatic indica rice varieties. Plant Cell Rep. 15：449-454.
10. Lai, K. L., and L. F. Liu. 1988. Increased plant regeneration frequency on water-stressed rice tissue cultures. Japan. Jour. Crop

Sci. 57：553-557.

11. Liu, L. F., and K. L. Lai. 1982. A comparison of callus induction and plant regeneration from young embryos of different rice varieties. Natl. Sci. Counc. Monthly 10：135-143.

12. Liu, L. F., and K. L. Lai. 1991. Enhancement of regeneration in rice tissue cultures by water salt stress. pp.47-57. in：Biotechnology in Agriculture and forestry Vol.14 Rice (Bajaj, Y. P. S. ed.). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany.

13. Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15：473-497.

14. Ozawa, K., and A. Komamine. 1989. Establishment of a system of high-frequency embryogenesis from long-term cell suspension cultures of rice (*Oryza sativa L.*). Thero. Appl. Genet. 77：205-211.

15. Rance, I. M., W. Tian, H. Mathews, A. de Kochko, R. N. Beachy, and C. Fauquet. 1994. Partial desiccation of mature embryo-derived calli, a simple treatment that dramatically enhances the regeneration ability of indica rice. Plant Cell Rep. 13：647-651.

16. Rueb, S., M. Leneman, R. A. Schilperoort, and L. A. M. Hensgens. 1994. Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 36：259-264.

17. Seraj, Z. I., Z. Islam, M. O. Faruque, T. Devi, and S. Ahmed. 1997. Identification of the regeneration potential of embryo derived callus from various indica rice varieties. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 48：9-13.

18. Suprasanna, P., T. R. Ganapathi, and P. S. Rao. 1995. Establishment of embryogenic callus, somatic embryos and plant regeneration in indica rice. J. Genet. & Breed 49：9-14.

19. Tsukahara, M., and T. Hirosawa. 1992. Simple dehydration treatment promotes plantlet regeneration of rice *(Oryza sativa L.)* callus. Plant Cell Rep. 11：550-553.

20. Wenjing T., L. Bao, and X. Miao. 1997. Establishing japonic rice suspensions retaining a high regeneration potential after 14 months of culture. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 47：213-216.

Callus Induction and Shoot Regeneration from Mature Seed of Rice Tainung 67 (*Oryza sativa* L.) [1]

Chi-Ni Hsia and Chang-Sheng Wang [2]

Summary

The production of transgenic plants has a great potential for crop improvement however a reliable and efficient regeneration system is a prerequisite for gene transformation. The objectives of this study were to investigate the effects of salt formulation, carbon source, proline, water stress and callus aging on plant regeneration from mature seed-derived callus culture of cultivar Tainung 67 (TNG 67), a popular rice variety in Taiwan. Callus was initiated from mature seeds of three cultivars Taipei 309 (TP309), Taichung native 1 (T(N)1) and TNG67 on two salt formulations (N6 and MS) with an average callus formation frequency of 94.6%, 80.5% and 50.8% for each variety, respectively. Although it was found that callus formation better on N6 medium than MS medium for TNG67, no difference was observed on callus formation of T(N)1 and TP309 on both salt formulations. A significant effect of proline on enhancement of embryogenic callus regeneration was observed. A 100% regeneration frequency was obtained from embryogenic calli grown on proline treatment (1.15 g/l) however only 66.7% for the control (without proline). The water stress treatments including the use of 1% agarose, 0.5% phytagel and 1.6% bacto-agar were found with 41%, 14.5% and 0% frequency of regeneration, respectively. The decreasing regeneration frequency was observed along with increasing of long-term cultures. A 87.5% frequency of regeneration was obtained from the 18-day-old embryogenic callus and only 40% remained for the 42-day-old embryogenic callus on a regeneration medium containing sucrose. Meanwhile, a higher regeneration frequency (95%) was obtained for the 42-day-old embryogenic callus grown on a regeneration medium containing maltose. Medium of N6 and MS salt formulation with kinetin and BA respectively were tested for shoot elongation however no significant difference was found.

Key words : *Oryza sativa* L., Callus induction, Regeneration.

---

1. Contribution No. 1957 from Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Respectively, Assistant Researcher and Associate Researcher of Agronomy Department, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）47(4)：346～363（1998）

彩虹鳥蕉組織培養之研究

Ⅰ.培植體離體培養污染細菌之檢定及防治[1]

蕭翌柱[2] 許秀惠[2] 王才義[3] 蔡新聲[2]

摘要：本試驗以彩虹鳥蕉 *Heliconia psittacorum* 'Rhizomatosa'為材料，進行植株各部位培植體之離體培養，嘗試篩檢污染菌類，並尋求降低高污染率的方法。結果顯示，離體培養 21 天後各部位培植體皆有高污染率，其中以根莖新芽污染率 100％ 最高，葉片上半部(57.7％)較低，葉片下半部(83.3％)、葉柄(80％)、子房(90％)和花梗(96.7％)之污染率也都在八成以上；除子房外，其它培植體受眞菌類污染比例偏低，污染源以細菌性為主，且全部為革蘭氏陰性。各細菌單一菌落經 Biolog GN Microplate 鑑定系統分析污染菌源分別為 *Agrobacterium radiobacter, Pseudomonas diminuta, Pseudomonas putida, Serratia marcescens, Sphingomonas pancimobilis* 及 *Xanthomonas campestris*，比對相似度皆達七成以上。取自溫室無土介質栽培區之各種培植體，離體培養後之平均污染數皆顯著低於取自田間者。子房培植體浸漬於含 MS 基本鹽類及添加 100 mg/l 鏈黴素(streptomycin sulfate, Sigma)、50 mg/l 見大黴素(gentamycin sulfate, Sigma)之液體培養基中振盪培養 24 小時與 48 小時，再移種於固體培養基培養 21 天後之污染率為 40％ 與 46％ ，略低於浸漬於添加 50 mg/l 鏈黴素、50 mg/l 見大黴素液體培養基 24 小時與 48 小時之處理者(72％ 與 68％)，且明顯低於對照組 86％ 之高污染率；培養 45 天後，不論有無浸漬抗生素處理，其誘生癒合組織之差異不明顯。

關鍵詞：彩虹鳥蕉、離體培養、培植體、細菌檢定。

前　　言

赫蕉屬*(Heliconia)*植物目前被世界各國收集培育供觀苞或觀葉用的品種超過 200 種以上，其原生地絕大部份源自南、北美洲附近之熱帶地區，僅有少數幾個品種或變種，原生於太平洋的幾個熱帶島嶼；其分佈範圍約從墨西哥(Mexico)北迴歸線附近及加勒比海(Caribbean)熱帶島嶼開始，至位於南美洲之南迴歸線熱帶地區為止[(16)]。

赫蕉屬植物約在 1967 年至 1970 年間引進本省栽培，由園藝考察團或張氏等人分別自菲律賓及馬來半島等地引入[(7)]，初期種植的品種有豔紅赫蕉 *Heliconia humilis* (Aubl.) Jacq.、金鳥赫蕉 *H. rostrata* Ruiz et Pav.和 *H. latispatha* Benth.。1979 年出版之台灣植物誌則只收錄豔紅赫蕉一項而已[(2)]，可能當時本省赫蕉之商業栽培尚不普遍並呈零星分佈。目前較具栽培規模之切花品種如俗名長尾鸚鵡花或彩虹鳥蕉的 *H. psittacorum* 'Rhizomatosa' (圖 1)、紅鳥蕉 *H. psittacorum* 'Rubra'以及名為鸚鵡花或黃鸝鳥蕉的

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1958 號。
2. 臺灣省農業試驗所助理、助理研究員及研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。
3. 國立中興大學園藝學系副教授。臺灣省　臺中市。

雜交品種 *H. psittacorum* 'Golden Torch'，則約在 1988 年坊間出版之園藝圖書方見介紹[10]，據此推估，這三個新栽培種引入本省種植的時間，應僅十餘年，但因受經濟快速發展、國人生活水準大幅提升等因素影響，近年來此種花色多變及苞片豔麗、吸水性良好的切花材料，正逐漸受到關注與喜愛，更因其形狀酷似天堂鳥花，故又有"小天堂鳥"的稱號，現今以屏東地區栽培較多並少量外銷日本。

圖 1. 彩虹鳥蕉的花朵及其花序。(比例尺＝ 2 cm)

Fig.1. The inflorescence and flowers of *Heliconia psittacorum* 'Rhizomatosa'. (Scale bar ＝ 2 cm)

在美國夏威夷地區收集選育之赫蕉栽培種總數約達 90 種[16]，其生長習性大部份呈叢生狀 (clumping)，並利用地下根莖萌生之新芽進行營養繁殖，但此種分株繁殖方式對於生產赫蕉種苗而言是相當不利的，例如日本地區對於輸入的農業產品採取嚴格檢疫制度，依其植物保護法規定，進口植物不能帶有泥土，且凡是出口到日本的花卉必需具有由出口國家簽證的植物衛生檢驗證明文件，一旦發現有病原菌或虫害，必須由進口承銷商負責消毒、銷毀或退回[5]。夏威夷地區就曾在赫蕉類植株發現青枯病菌〔*Pseudomonas solanacearum* (Smith)〕，而被檢疫嚴格的國家拒絕進口[29]。爲求本省花卉產品及種苗能在國際市場佔有一席之地，利用組織培養技術大量繁殖健康種苗並藉由生物科技進行新花色或新品種之誘變選育，應是值得研究的目標。

目前本省從事赫蕉組織培養之研究尚不多見，相關文獻也以各品種在植物學、生態學或形態學方面的描述較多[12,14,17,19,20,21,23]，只有少數提到培植體之消毒與培養[15,25,29,30]，且造成本省赫蕉作物離體培

養高污染率之菌體種類也未見報導，因此本試驗以彩虹鳥蕉爲材料，進行植株各部位培植體之離體培養，嘗試篩檢污染菌類，並尋求降低高污染率的方法。

材料與方法

一、植株不同部位離體培養之污染率比較

(一)自田間切取株齡一年半左右之彩虹鳥蕉植株剛開展葉片、子房、花梗及地下根莖萌生之新芽爲供試培植體，材料取得後先去除泥土、雜質與腐壞的部份，並以自來水沖洗乾淨。

(二)培植體外部以 75 % 酒精棉擦拭或用酒精溶液浸漬殺菌 30 秒後，換以 0.5-1 % 次氯酸鈉溶液超音波振盪消毒 15-20 分鐘，在無菌操作台上用無菌水清洗三次，再將培植體接種於事先配製好的培養基上，其中葉片培植體橫切爲三，依序分爲葉柄、葉片下半部及葉片上半部。

(三)葉片、子房及花梗等培植體誘導癒合組織之培養基組成分爲含MS[28]基本鹽類，另外添加 2 mg/l 2,4-D 、2 mg/l kinetin 、3 % sucrose 和 0.3 % gelrite, pH = 5.7。而根莖新芽誘導芽球體之培養基組成分除含 MS 基本鹽類外，另添加 2 mg/l BA 、1 mg/l NAA 、3 % sucrose 和 0.3 % gelrite, pH = 5.7。

二、污染菌種檢定

(一)上述各培植體離體培養約三星期後，調查各部位培植體的污染情形，並將培植體切口處出現之菌種取出依下列步驟進行檢定。

(二)菌種純化

1. 在無菌操作台上以接種環挑取污染之菌種，輕劃於 NA 培養基 (Nutrient agar, Difco, 3 g/l Bacto beef extract, 5 g/l Bacto peptone, 15 g/l Bacto agar)，再置入 32℃恆溫箱中培養，經 24 小時後挑取單一菌落，重覆上述步驟三次後將菌種培養於含 NA 培養基之試管中備用。
2. 將純化之菌株回接於第一項所示之培養基，觀察是否與原來菌落型態相同，若無差異則進行下一步驟。

(三)簡易革蘭氏陽性/陰性菌之判斷

1. 在無菌操作台上以牙籤挑起菌種，並與事先配製好之 3 % KOH溶液 1-2 滴在載玻片上充份混合[32]。
2. 如混合液出現黏稠絲狀，此一菌種應屬革蘭氏陰性(GN)細菌，否則即爲革蘭氏陽性(GP)細菌。

(四) Biolog GN Microplate Identification System 鑑定污染菌種

1. 挑取供試菌種之單一菌落，培養於含 15 g/l Bacto tryptone、5 g/l Bacto soytone、5 g/l sodium chloride 及 15 g/l Bacto agar 之 TSA 培養基(Tryptic Soy Agar)約 16-20 小時。
2. 在無菌操作台上用接種環沾取菌落，置入裝有 17-20 ml 之無菌生理食鹽水(0.85 % NaCl)中。
3. 用振盪器混合均勻後，再以光譜儀(Bausch & Comb Spectrophotometer 70)測定其 OD_{590} 值(混濁度)爲 0.3。
4. 利用電子定量分注器將細菌懸浮液分注於具有 96 個孔穴之 Biolog Microplate GN 專用反應盤(含 95 種基質及對照孔穴)，每一孔穴約 0.15 ml。
5. 反應盤置於室溫下保濕，分別於反應 4 小時及 24 小時後以 Emax Precision Microplate Reader 設定 Wavelength O.D.＝ 490 nm 判讀，並將資料輸入資料庫中比對以確定其分類地位。

(五)農桿菌病原性測定

1. 胡蘿蔔接種測定

(1)新鮮胡蘿蔔肉質根先以自來水清洗乾淨，外部再用棉花沾取 75 % 酒精溶液擦拭消毒，並於無菌操作台上橫切成數塊，每塊厚約 1.2 cm。

⑵在無菌操作台上用接種環沾取待測之農桿菌菌落，接種於胡蘿蔔肉質根形成層上，另以無菌水及已知具有病原性之榕樹農桿菌株(菌株編號 85007)[8]爲對照組，分別接種於胡蘿蔔肉質根形成層上，各組均置於室溫下以培養皿保濕培養，並觀察有否腫瘤產生。

2.番茄接種測定

⑴以培植於網室內之農友 301 番茄幼苗爲供試植株，取培養於PDA培養基 2 天之菌泥爲接種源，用蟲針刺傷及剪刀剪傷等方法在莖部製造傷口，再將接種源塗抹於傷口處。

⑵供試植株接種後放置 28℃環境下，以塑膠袋套袋保濕 24 小時，並各以無菌水及已知具有病原性之榕樹農桿菌株(菌株編號 85007)[8]接種作爲對照組，觀察並記錄病徵出現情形。

三、不同生育環境對降低培植體污染率之影響

㈠將與第一項所示相同株齡之植株掘起相當數量並均分爲二，第一組在除去枯葉雜質後，立即移植於不遮光的溫室土壤栽培床(300cm×180cm)；第二組則以自來水沖洗乾淨並浸漬於含億力殺菌劑 1000 倍水溶液中 2 小時後，再栽種於溫室另一個無土介質栽培床(300cm×180cm)，所用介質爲樹皮碎塊：發泡煉石＝ 1：1。

㈡在不同生育環境栽培 3-4 個月後，分別採取如第一項所示之各部位培植體，經外部消毒殺菌後接種於如第一項所示之培養基中，每個試驗重覆 3 次。

㈢各培植體離體培養約三星期後，調查各部位培植體的污染情形。

四、抗生素浸漬預處理對降低子房污染率之影響

㈠自田間採取花瓣剛脫落 1-3 日左右之彩虹鳥蕉子房，經外部消毒殺菌後，先浸漬於含不同抗生素比例之浸漬液中，經 24 小時與 48 小時振盪培養後分別取出，再接種於固體培養基中，固體培養基組成分與第一項所示者相同；浸漬液則須去除 gelrite，再分別添加 50 mg/l 鏈黴素(streptomycin sulfate, Sigma)、50 mg/l 見大黴素(gentamycin sulfate, Sigma)及 100 mg/l 鏈黴素、50 mg/l 見大黴素。

㈡子房培植體培養約三星期後調查其污染情形，經 45 天後觀察不同抗生素濃度對子房誘導產生癒合組織之影響。

以上試驗有關污染率之調查結果，係採用二項分佈(Binomial distribution)95％ 信賴區間(confidence limits)檢定處理間之差異；計算污染率平均値則以 least significant difference (LSD5％) test 檢定處理間之差異。上述各項試驗中新芽培植體置於溫度 24℃、光照 12 hr、光量爲 100μE/m^2・s 及光波長爲 350-800 nm 環境下誘導產生芽球體；葉片、花梗與子房則置於溫度 24℃暗櫃中培養以誘導產生癒合組織。

結　果

一、植株不同部位離體培養之污染率比較

表 1 結果顯示，經離體培養 21 天後之彩虹鳥蕉各部位培植體，以根莖萌生的新芽在接種 30 個樣本中細菌污染率達 100％ 最高；葉片上半部的污染率 56.7％ 較低，其餘如葉片下半部(83.3％)、葉柄(80％)、子房(90％)和花梗(96.7％)之污染率皆在八成以上，經二項分佈 95％ 信賴區間檢定彼此差異後發現，葉片上半部的污染率與花梗、根莖新芽差異較明顯。

表 1. 彩虹鳥蕉不同部位培植體離體培養之污染率[z]

Table 1. Contamination rate of different explants from donor plants for establishing *in vitro* culture of *Heliconia psittacorum* 'Rhizomatosa'.[z]

Explants	No. of explants cultured	Contamination after 21 days of culture	
		%	95 % CL[y]
Leaf tip	30	56.7	37- 75
Leaf base	30	83.3	65- 94
Petiole	30	80.0	61- 92
Oveary	30	90.0	73- 98
Peduncle	30	96.7	83-100
Bud	30	100.0	88-100

[z] Leaf、ovary and peduncle cultured medium：MS basic salts with 2mg/l 2, 4-D、2mg/l kinetin、3 % sucrose and 0.3 % gelrite, pH = 5.7.

Bud culture medium：MS basal salts with 2mg/l BA、1mg/l NAA、3 % sucrose and 0.3 % gelrite, pH = 5.7.

[y] 95 % confidence limits of Binomial distribution.

二、污染菌種檢定

挑取培養於 TSA 培養基已達 16-20 小時之各供試菌種單菌落進行檢定，經 Biolog GN Microplate 測定判讀結果如表 2 所示，有六種細菌分別對反應盤所提供的 95 種不同基質之利用情形與資料庫比對後確定了分類地位，再經查閱細菌學名詞辭典[4]相關菌種屬名後，計檢出農桿菌屬細菌一種(*Agrobacterium tumefaciens*)、假單胞菌屬細菌二種(*Pseudomonas diminuta, P. putida*)、賽氏桿菌屬細菌一種(*Serratia marcescens*)、單胞菌屬細菌一種(*Xanthomonas campestris*)以及 *Sphingomonas pancimobilis*，其全爲革蘭氏陰性，且經比對後之 GN Biolog 相似度皆達七成以上，其菌落在含 MS 基本鹽類培養基上的滋生情形分別如圖 3-8 所示，其中 *A. tumefaciens* 的相似度高達 88.6 % ，且在 NA 培養基上的單菌落呈白色黏濕且明亮有光澤。另取此種農桿菌屬菌落以及無菌水作爲接種源，經接種觀察皆未在胡蘿蔔肉質根形成層及番茄幼苗莖部出現腫瘤病徵，但接種具有病原性農桿菌之對照組則已產生腫瘤。

表 2. 分離自彩虹鳥蕉培植體之細菌名稱

Table 2. Bacteria isolated from different explants of *Heliconia psittacorum* 'Rhizomatosa'.

Species of bacterium	Gram's strain	GN Biolog similarity (%)
Agrobacterium tumefaciens	negative	88.6
Pseudomonas putida	negative	82.1
Pseudomonas putida	negative	89.7
Serratia marcescens	negative	75.6
Sphingomonas pancimobilis	negative	71.4
Xanthomonas campestris	negative	78.6

圖 2. 100mg/l streptomycin 及 50mg/l genetamicin 預處理彩虹烏蕉子房，在離體培養 45 天後癒合組織之誘導情形。(比例尺＝ 1 cm)
A： 處理 0 小時(對照組)；B：處理 24 小時。

Fig. 2. Appearance of induced callus in ovary explants pretreated with 100mg/l streptomycin and 50mg/l genetamycin after 45 days cultured *in vitro*. (Scale bar ＝ 1cm) A：0 hr (CK)；B：24 hrs.

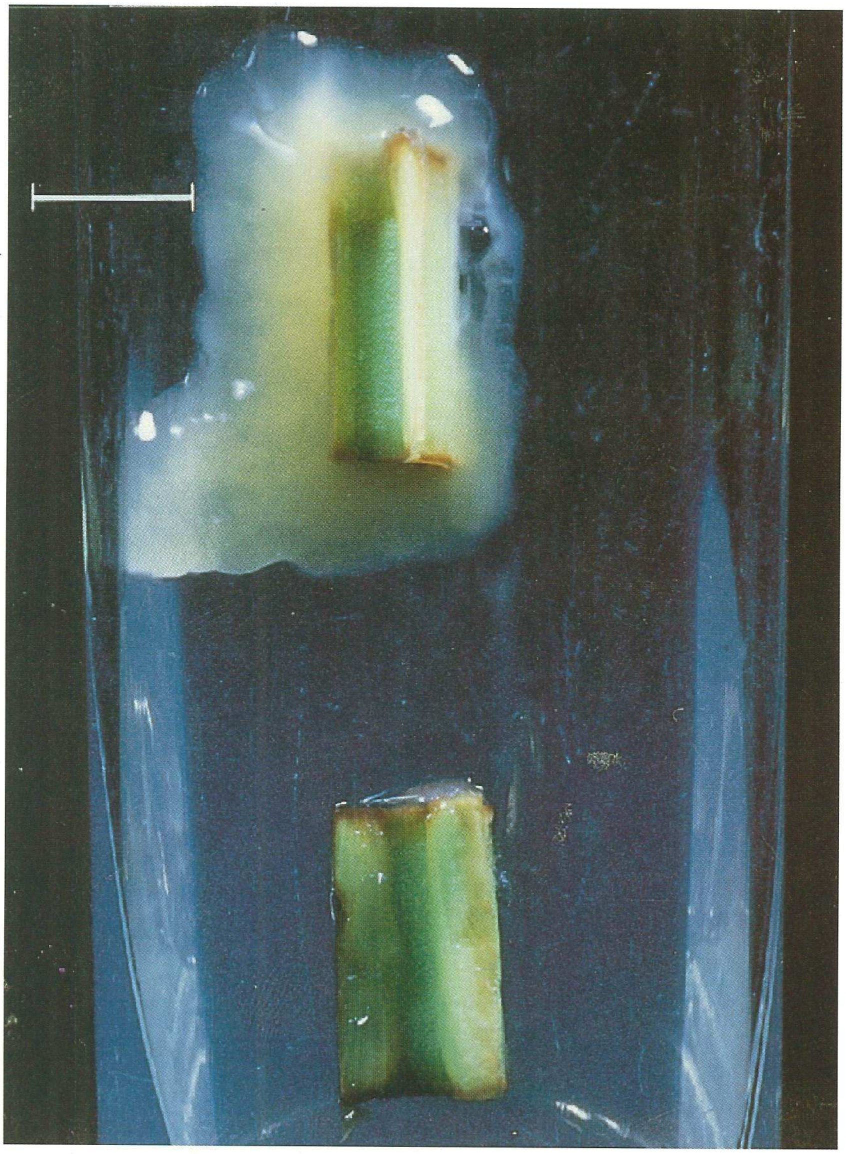

圖 3. *Sphingomonas pancimobilis* 細菌在培植體上之污染情形。(比例尺＝0.5 cm)
Fig. 3. Appearance of contaminated explants by *Sphingomonas pancimobilis* on MS medium. (Scale bar = 0.5cm)

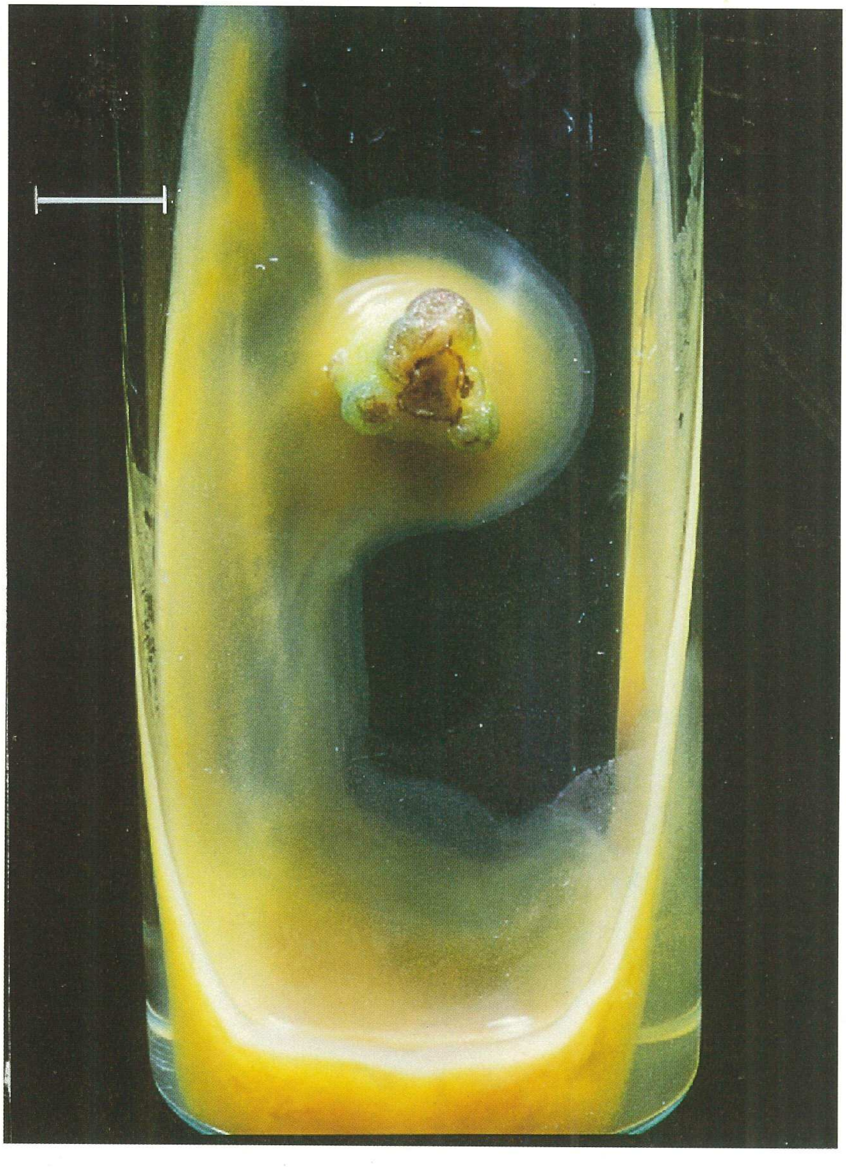

圖 4. *Xanthomonas campestris* 細菌在培植體上之污染情形。(比例尺＝ 0.5 cm)

Fig. 4. Appearance of contaminated explants by *Xanthomonas campestris* on MS medium. (Scale bar ＝ 0.5cm)

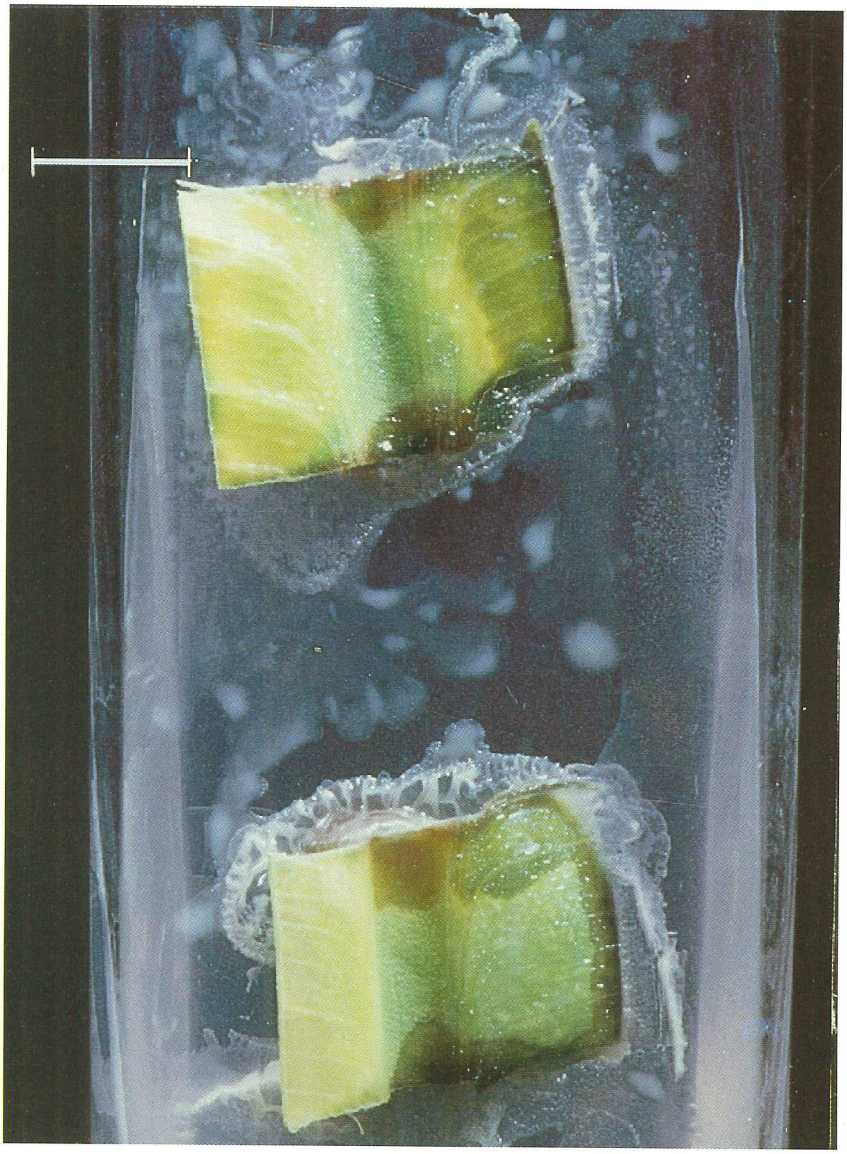

圖 5. *Pseudomonas putida* 細菌在培植體上之污染情形。(比例尺＝ 0.5cm)

Fig. 5. Appearance of contaminated explants by *Pseudomonas putida* on MS medium. (Scale bar = 0.5cm)

圖 6. *Agrobacterium tumefaciens* 細菌在培植體上之污染情形。(比例尺＝ 0.5cm)

Fig. 6. Appearance of contaminated explants by *Agrobacterium tumefaciens* on MS medium. (Scale bar = 0.5cm)

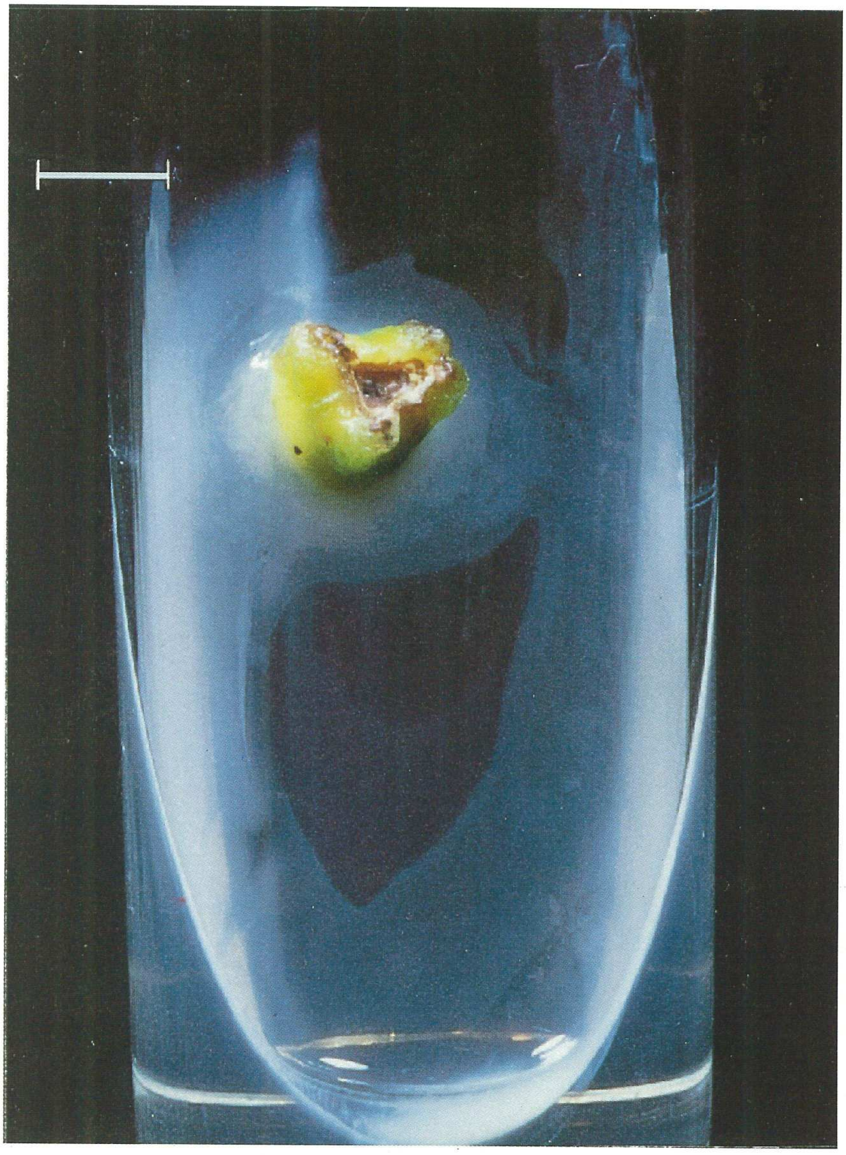

圖 7. *Pseudomonas diminuta* 細菌在培植體上之污染情形。(比例尺＝ 0.5cm)

Fig. 7. Appearance of contaminated explants by *Pseudomonas diminuta* on MS medium. (Scale bar = 0.5cm)

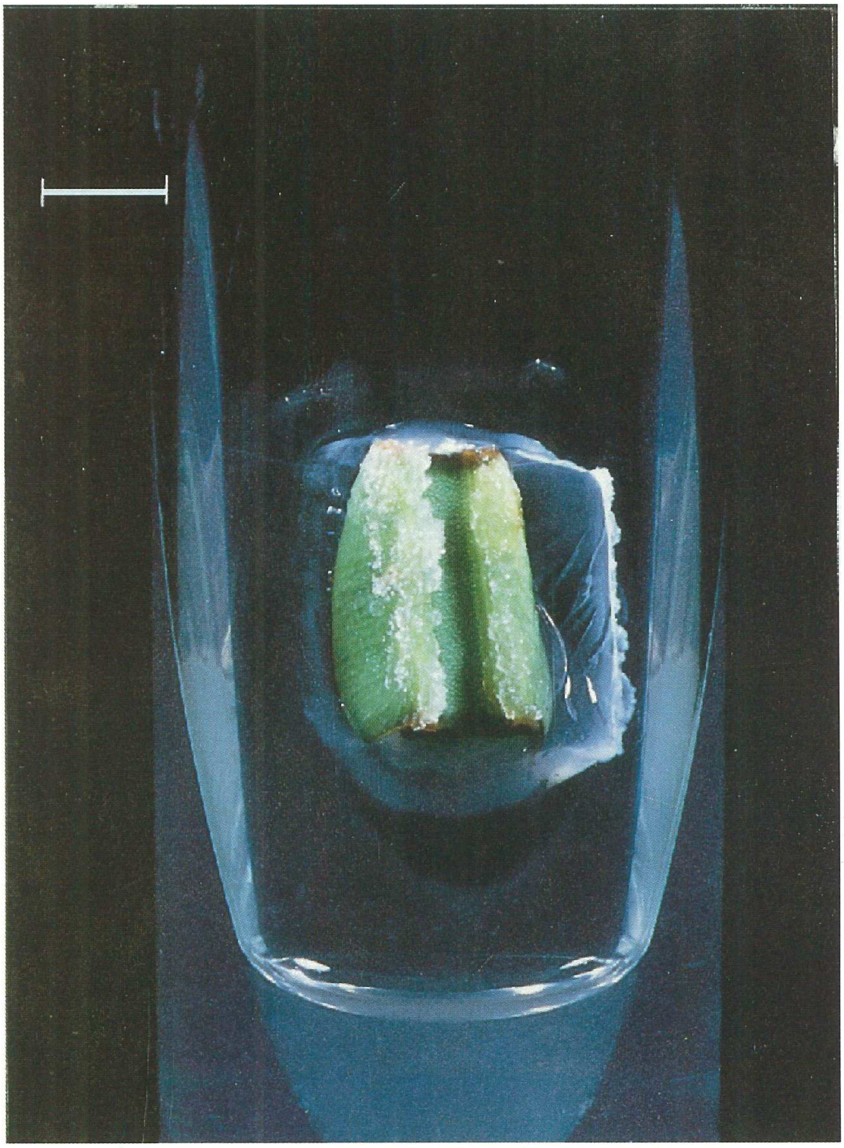

圖 8. *Serratia marcescens* 細菌在培植體上之污染情形。(比例尺＝ 0.5cm)

Fig. 8. Appearance of contaminated explants by *Serratia marcescens* on MS medium. (Scale bar = 0.5cm)

三、不同生育環境對降低培植體污染率之影響

表 3 結果顯示，取自溫室無土介質栽培區之彩虹鳥蕉葉片培植體，在每 20 個樣本中平均有 46.5 % 受到污染，而取自田間及溫室土壤栽培區者，則平均污染率分別達到 85.0 % 及 78.5 % ，差異顯著；花梗培植體之污染情形經比較後也得到相似的結果；比較不同生育環境下的子房培植體平均污染數則發現，不論是生長於溫室土壤栽培區或無土介質栽培區者，在每 20 個樣本中平均僅有 30.0 % 與 21.5 % 受到污染，皆顯著低於取自田間之 93.5 % 。至於以根莖新芽作爲供試材料者，則在每 10 個樣本中，生長在溫室無土介質栽培區的平均污染率 63.0 % ，也顯著低於取自另外二種生育環境之平均污染率 (97.0 % 及 93 %)。

表 3. 不同生育環境對彩虹鳥蕉培植體離體培養污染之影響[z]

Table 3. The influence of growing condition on contamination of *in vitro* culture of *Heliconia psittacorum* 'Rhizomatosa'.[z]

Environment[y]	% leaf explant contaminated[x]	% peduncle explant contaminated[x]	% ovary explant contaminated[x]	% bud explant contaminated[x]
Field (CK)	85.0a	91.5a	93.5a	97.0a
Greenhouse A	78.5a	80.0a	30.0b	93.0a
Greenhouse B	46.5b	48.5b	21.5b	63.0b

[z] Same as Table 1.

Sample size：20 for leaf, peduncle and ovary explants; 10 for bud explants.

[y] A：plants cultured in soil compost, B：plants cultured in calcined clay：blay：barks (1：1)mix.

[x] Means followed by the same letter in the same collumn are not significantly different at 5 % level by least significant dif ference (LSD) test.

四、抗生素浸漬預處理對降低子房污染率之影響

表 4 結果顯示，以取自田間之彩虹鳥蕉子房爲供試材料，經浸漬於含 MS 基本鹽類、2 mg/l 2,4-D 、2 mg/l kinetin 、3 % sucrose 及添加 100 mg/l streptomycin sulfate、 50 mg/l gentamycin sulfate 之液體培養基中，經振盪培養 24 小時與 48 小時後，再移種於誘導產生癒合組織之固體培養基培養 21 天後，每 50 個樣本數分別有 20 及 23 個受細菌污染，污染率爲 40 % 與 46 % ，略低於浸漬於添加 50 mg/l streptomycin sulfate、50 mg/l gentamycin sulfate 液體培養基者(72 % 與 68 %)，並且明顯低於對照組的 86 % 污染率及浸漬於不含抗生素液體培養基中 24 小時、48 小時之 80 % 與 90 % 。培養於固體培養基 45 天後，調查各處理組無污染現象之子房培植體誘生癒合組織數，結果各處理組之誘生率皆達七成以上，若以浸漬於無添加抗生素與添加 100 mg/l streptomycin sulfate、50 mg/l gentamycin sulfate 液體培養基 24 小時者相互比較，發現其誘生癒合組織率分別爲 80.0 % 及 73.3 % ，兩者再以二項分佈(Binomial distribution) 95 % 信賴區間(confidence limits)檢定後得知處理間差異不明顯(圖 2)。

表 4. 抗生素預處理對彩虹鳥蕉子房培植體離體培養污染之影響[z]

Table 4. Effect of antibiotic pretreatment on ovary explant contamination of *Heliconia psittacorum* 'Rhizomatosa'.[z]

Pretreatment with antibiotic liquid medium			Contamination after 21 days of culture		Uncontaminated ofter 45 days of culture		
						callus induced	
S[y] (mg/l)	G[y] (mg/l)	Time (hr)	%	95 % CL[x]	No.	%	95 % CL[x]
0	0	0	86	73-94	7	85.7	51-100
0	0	24	80	66-94	10	80.0	44- 97
0	0	48	90	78-97	5	100.0	60-100
50	50	24	72	57-84	14	71.4	43- 92
50	50	48	68	54-80	16	81.3	53- 96
100	50	24	40	27-55	30	73.3	54- 88
100	50	48	46	32-61	27	85.2	67- 96

[z] Solid medium：MS basal salts with 2mg/l 2, 4-D、2mg/l kinetin、3 % sucrose and 0.3 % gelrite, pH = 5.7.
Sample size：50 explants per treatment.

[y] "S"= Streptmycin; "G"= Genetamycin.
Explants were pretreated in a antibiotic contain liquid medium. The liquid medium was same as soild medium described above except without 0.3 % gelrite.

[x] 95 % Confidence limits of Binomial distribution.

討　論

彩虹鳥蕉為多年生草本植物，其地上部莖節實際上是由直立且內部充滿空氣及圓筒狀導管的葉鞘所重疊構成的"假莖"(pseudostem)，地下部根莖則位於假莖基部處，根莖萌生之新芽是促使分枝的開始，因其生長勢相當強健，所以能在短期內形成數量龐大的單一無性繁殖體系(monoclonal populations)[16]。試驗顯示，此種植株各部位培植體在建立離體培養時，遭受細菌污染的比例甚高，由於在進行組織培養前，外部必先經過 75％ 酒精及 0.5％ -1％ 次氯酸鈉溶液之殺菌處理，結果仍無法有效抑制培植體污染，依此推斷污染菌源應是潛藏於組織內部，故在經過消毒程序後仍能存活，尤其是子房之離體培養，不但細菌污染嚴重，且發霉率也比其他培植體高；此可能與赫蕉類花朵基部具有似球莖狀之蜜室構造或子房被船形苞片包覆，遇到下雨或風砂吹襲時容易積水及藏污納垢有關。印證表 3 的試驗結果，從溫室區栽培的植株上取得的子房培植體，不論是種在土壤介質或無土介質者，其受細菌污染及發霉的比例顯著降低，可見藉由人工設施加強管理及淨化栽培，對降低組織培養污染具有正面的助益。

在植物組織培養上常藉由慎選培植體、改進消毒與操作技術或其他物理及化學的處理方法，達到令人滿意的抑菌效果。Pedersen 和 Brandt 曾選取百合水仙*(Alstroemeria)*和赫蕉屬的 *Heliconia psittacorum* 'Choconiana Dwarf'小於 4 cm的根莖新芽莖頂部位作為培植體，經自來水沖洗乾淨後，依次使用 1％ NaOCl 消毒 10 分鐘、1％ NaOCl 消毒 5 分鐘及 0.5％ NaOCl 消毒 1 分鐘等三階段的切取及消毒法，結果獲得 81.5％ 無污染的培植體[30]。Nathan 等人則將田間挖取的 *Heliconia psittacorum* 根莖在經自來水沖洗後，放入聚乙烯袋(polyethylene bags)中並在 25℃室溫下保存 5、7 天以取得長度約僅 1 cm 左右的芽體，經 80％ 酒精溶液浸漬 30 秒及使用 0.8％ NaOCl 消毒 15 分鐘、0.4％ NaOCl 消毒 10 分鐘等二階段消毒後，分別在 34 及 42 個供試芽體中，得到 19 與 28 個無污染的培植體，顯著高於其他處理組[29]。

較常被使用的物理性方法除上述淨化栽培法外，也有利用適當加溫設備的熱水處理法，對於採收前後附著於植物體之病原菌，具有一定的防治效果，如Doornik將罌粟草玉梅*(Anemone coronaria)*球莖使用 47.5℃熱水處理 1 小時，結果成功地殺死 99％ 以上的次盤孢屬眞菌*(Colletotrichum acutatum)*孢子[18]。Burr 等人也曾報導，利用四種不同的熱處理方法 (50℃處理 30 及 60 分鐘、30℃處理 2 小時再改用 50℃處理 90 分鐘、 55℃處理 30 分鐘)，可以顯著降低葡萄插穗受到 *Agrobacterium vitis* 病原菌之危害[13]。彩虹鳥蕉之根莖新芽及子房等培植體，應用熱水處理以降低污染菌類是值得探討的問題，作者將繼續進行這方面的研究。

利用化學法去除培植體內各種菌類污染源，多在培養基內添加各類抗生素或殺菌劑。Arditti 等人報導蝴蝶蘭 *(Phalaenopsis)*利用花梗節進行營養繁殖時，於培養基中適量添加50mg/l億力殺菌劑、25mg/l nystatin、100mg/l 盤尼西林(penicillin)、 50mg/l gentamycin sulfate 或 2g/l graphite，能有效降低培植體污染[11]。Thomas轉述研究資料認爲，在茶樹及山茶花莖頂組織培養過程中，培植體先以 1-4g/l benomyl 和 10-50 mg/l rifampicin 處理 24 小時，可有效降低微生物污染並且無毒害作用[33]。Reed 等人也以 Timentin (500 mg/l 或 1,000 mg/l)配合 streptomycin (1,000 mg/l)預處理榛子*(Corylus avellana* L.)三個不同品種的莖頂培植體 10 天，結果僅有 10-50％ 受到細菌污染[31]。而某些種類的抗生素如 cefotaxime (60-100 mg/l)之添加使用，不但有不錯的抑菌效果，且能適度刺激培植體的分化與再生[26,27]；此外，Klocke and Myers 曾在培養油栗*(Simmondsia chinensis)*的培養基中添加 10-100 mg/l Acephate (Orthene)藥劑，以防治莖節培植體之污染源，其選用此種藥劑的原因，是著眼於其防治效果優異，水溶性良好便於調配且對於哺乳類動物及植物而言相對毒性較低[24]；由上述實例得知，培養基添加化學藥劑或抗生素類，如能考慮到植物的耐受性、藥劑的種類、特性與用量、適用的微生物菌種以及毒性殘留等問題，方能得到良好的抑菌效果。本研究表 4 的結果也顯示，在彩虹鳥蕉子房培植體接種到固體培養基以誘導產生癒合組織前，先用已添加 100 mg/l streptomycin sulfate 及 50 mg/l gentamycin sulfate 的浸漬液，振盪培養 24 及 48 小時，能有效降低細菌性污染率，且處理後對子房癒合組織之誘導無不良影響。

Reed等人曾檢定造成榛子莖頂培植體污染的細菌種類，結果分離出包括*Agrobacterium radiobacter* B, *Enterobacter asburiae, Pseudomonas fluorescens* 以及 *Alcaligenes* 屬、*Flavobacterium* 屬和 *Xanthomonas* 屬之細菌[31]。本試驗之表 2 也列出了造成彩虹鳥蕉各種培植體污染的可能細菌種類，其中又以檢出農桿菌屬的 *Agrobacterium tumefaciens* 最爲重要，其爲好氣性細菌。據研究本屬細菌的某一種類會引起植物癌腫病，且菌株的寄主包括有桃、梨、杏、葡萄、蘋果等經濟類果樹及菊花、玫瑰等觀賞花卉[8]。本省有關癌腫病最早記載爲 1959 年在做甜菜病害調查時發現[3]，另在 1967 及 1980 年也分別從蘋果和檸檬桉記錄到癌腫病[6,9]，但對於病原菌的檢定遲至 1992 年才在台灣赤桉及玫瑰桉植株腫瘤上分離出 *A. tumefaciens*[1]；許等人更在本省金門榕*(Ficus microcarpa* L. f. var. *pusilifolia* Liao cv. Kin-men)、中葉榕*(Ficus microcarpa* L. f. cv. Middle-leaf)及生長在屏東地區的小葉榕*(Ficus microcarpa* L. f. var. *pusilifolia* Liao)植株腫瘤上，分離出相似的病原菌種[8]。本試驗自彩虹鳥蕉所分離到的 *Agrobacterium* 屬菌種經 Biolog 反應盤重覆檢驗確定，但將菌株接種到胡蘿蔔肉質根及番茄植株莖部培養觀察一個月後並無腫瘤發生，據此研判分離自彩虹鳥蕉之農桿菌屬細菌應不具病原性，若參照 1984 年 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 一書對此屬菌種的區分方式，將無病原性者稱爲 *A. radiobacter*，而會引起腫瘤病者才稱爲 *A. tumefaciens*，則本試驗檢出之農桿菌屬細菌雖然在生化反應上與 *A. tumefaciens* 有 88.6％ 的相似度，但似應稱作 *A. radiobacter* 爲宜[22]。

Agrobacterium 屬細菌存在於彩虹鳥蕉植株體內，在本省為首度發現，雖然初步證實其並非病原菌，但在組織培養時仍應設法降低培植體之各種感染源，本研究利用淨化栽培及添加適量抗生素的液體培養基浸漬預處理，對降低培植體污染具有明顯效果，故對本省未來發展熱帶花卉產業、建立自主性赫蕉健康種苗繁殖技術及拓展外銷市場的努力應有良好的助益。

引用文獻

1. 王維洋。1992。台灣桉樹病害調查報告。林業試驗所研究報告季刊 7：179-194。
2. 台灣植物誌編輯委員會。1979。FLORA OF TAIWAN。現代關係出版社。Volume 6：174 頁。台北市。
3. 朱學曾、胡畢和。1959。甜菜病害之調查研究－台灣甜菜病害。台灣糖業試驗所研究彙報 19：21-34。
4. 吳佳倩、吳連生。1984。細菌學名詞辭典。名山出版社。118 頁。台北市。
5. 李皇照。1996。日本熱帶花卉市場需求遠景。台灣花卉園藝 105： 54-58。
6. 孫守恭。1967。台灣溫帶果樹之病害。植物保護學會會刊 9：96-97。
7. 陳德順、胡大維。1976。台灣外來觀賞植物名錄。川流出版社。369-370 頁。台北市。
8. 許秀惠、林俊義、陳福旗。1997。榕樹細菌性癌腫病菌(*Agrobacterium tumefaciens*)在台灣之發生。植物保護學會會刊 39：195-205。
9. 謝煥如。1980。台灣木本植物病害調查報告(三)。中華林學季刊 13：129-139。
10. 薛聰賢。1988。家庭園藝(臺灣的觀賞花木)。農學社。第 1 輯：49 頁；第 7 輯：26-27 頁；第 10 輯：25 頁。台北市。
11. Arditti, J., A. Johnson, and R. G. Perera. 1981. Culture media which do not require sterilization：*Phalaenopsis* flower stalk nodes. Orchid Rev. 89：49-52.
12. Broschat, T. K., and S. E. Svenson. 1994. DCPTA enhances growth and flowering of Heliconias. HortScience 29：891-892.
13. Burr, T. J., C. L. Reid, D. F. Splittstoesser, and M. Yoshimura. 1996. Effect of heat treatments on grape bud mortality and survival of *Agrobacterium vitis in vitro* and in dormant grape cuttings. Am. J. Enol. Vitic. 47：119-123.
14. Catley, J. L., and I. R. Brooking. 1996. Temperature and light influence growth and flower production in *Heliconia* 'Golden Torch'. HortScience 31：213-217.
15. Criley, R. A. 1988. Propagation of tropical cut flowers：*Strelitzia, Alpinia and Heliconia.* Acta Hort. 226：509-517.
16. Criley, R. A., and T. K. Broschat. 1992 . *Heliconia*：botany and horticulture of a new floral crop. Hort. Rev. 14：1-55 .
17. Criley, R. A., and S. Lekawatana. 1995. Year round production with high yields may be a possibility for *Heliconia chartacea.* Acta Hort. 397：95-101.
18. Doornik, W. A. 1990. Hot-water treatment to control *Colletotrichum acutatum* on corms of *Anemone coronaria.* Acta Hort. 266：491-494.
19. Geertsen, V. 1990. Influence of photoperiod and temperature on the growth and flowering of *Heliconia aurantiaca.* HortScience 25：646-648.
20. Hansen, J. D., H. T. Chan, Jr., A. H. Hara, and V. L. Tenbrink. 1991. Phytotoxic reaction of Hawaiian cut flowers and foliage to hydrogen cyanide fumigation. HortScience 26：53-56.
21. He, J., C. W. Chee, and C. J. Goh. 1996. "Photoinhibition" of *Heliconia* under natural tropical conditions：the importance of leaf orientation for light interception and leaf temperature. Plant Cell Environ. 19：1238-1248.
22. Kersters, K., and De Ley. J. 1984. Genus III. *Agrobacterium* Conn 1942. pp. 244-254. In：N. R. Kneg and J. G. Holt (eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1., The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Maryland.
23. Kirchoff, B. K. 1992. Ovary structure and anatomy in the Heliconiaceae and Musaceae (Zingiberales). Can. J. Bot. 70：2490-2508.
24. Klocke, J. A., and P. Myers. 1984. Chemical control of thrips on cultured *Simmondsia chinensis* (Jojoba) shoots. HortScience 19：400.
25. Kumar, P. P., M. J. Nathan, and C. J. Goh. 1996. Involvement of ethylene on growth and plant regeneration in callus cultures of *Heliconia psittacorum* L. f. Plant Growth Reg. 19：145-151.
26. Mathias, R. J. 1987. Cefotaxime：potential regeneration induction switch. Agricell Rep. 8：11.
27. Mathias, R. J. 1988. Antibiotic stimulates growth and differentiation of barley tissue cultures. Agricell Rep. 10：19.

28. Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15：473-497.

29. Nathan, M.J., C. J. Goh, and P. P. Kumar. 1992. In vitro propagation of *Heliconia psittacorum* by bud culture. HortScience 27：450-452.

30. Pedersen, C., and K. Brandt. 1992. A method for disinfection of underground rhizome tips of *Alstroemeria* and *Heliconia.* Acta Hort. 325：499-504.

31. Reed, Barbara M., J. Mentzer, P. Tanprasert, and X. Yu. 1998. Internal bacterial contamination of micropropogated hazelnut：identification and antibiotic treatment. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 52：67-70.

32. Suslow, T. V., M. N. Schroth, and M. Isaka. 1982. Application of a rapid method for gram-differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathology 72：917-918.

33. Thomas, R. L. 1987. Control of woody plant culture contaminants. Agricell Rep. 9：38.

Studies on Tissue Culture of *Heliconia psittacorum* 'Rhizomatosa'

I. Identification and Control of Bacterial Contamination of Explants Cultured *In Vitro*[1]

Yih-Juh Shiau[2], Shiow-Huey Hseu[2], Tsai-Yih Wang[3] and Hsin-Sheng Tsay[2]

Summary

This study were to identify and control the contaminants in tissue culture of *Heliconia psittacorum* 'Rhizomatosa'. Explants from different parts of *H. psittacorum* 'Rhizomatosa' were tested for the percentage of contamination. The lowest contamination rate was obtained from leaf tip explants (57.7 %) after 21 days of culture, and 80 % ,83.3 % ,90 % ,96.7 % ,100 % contamination for petiole, leaf base, ovary, peduncle and terminal bud, respectively. Six species of bacteria were isolated and characterized from explants of *H. psittacorum* 'Rhizomatosa'. All of them were Gram negative, and were identified as *Agrobacterium radiobacter, Pseudomonas diminuta, Pseudomonas putida, Serratia marcescens, Sphingomonas pancimobilis and Xanthomonas campestris.* Influence of explant derived from greenhouse-grown and field-grown plants on contamination was studied. A lower explant contamination rate was obtained from plants grew in the soilless medium in the greenhouse. Preculturing ovary explants in a liquid medium containing antibiotics to control of contamination was investigated. Lower contamination rates (40 % and 46 %) were obtained from explants pre-cultured in the liquid MS medium containing 100 mg/l streptomycin sulfate (Sigma) and 50 mg/l gentamycin sulfate (Sigma) for 24 or 48 hrs, while higher contamination rates (72 % and 68 %) were obtained when lower concentration of streptomycin sulfate was used (50 mg/l). A highest contamination rate was observed from the control treatment which was without any preculture of antibiotic medium. No significant difference between antibiotic and control treatments was found on callus induction rate after 45-day cultures.

Key words : *Heliconia psittacorum, In vitro,* Explant, Bacterial identification.

---

1. Contribution No. 1958 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Respectively, Research Assistant, Research Assistant and Senior Agronomist, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Associate professor, Department of Horticulture, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.

中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）47(4)：364～376（1998）

培養基組成與培養容器覆蓋物對康乃馨組織培養苗玻璃質化與發根的影響[1]

陳威臣[2]　蕭翌柱[2]　賴建洲[3]　蔡新聲[2]

摘要：玻璃質化(hyperhydricity, hyperhydration, vitrification or glassification)常見於草本與木本植物組織培養大量繁殖之過程，是種苗產業上相當嚴重的問題。傳統微體繁殖爲防止污染及培養基水分喪失，均以低透氣性的材質加以密封，是導致培養瓶苗玻璃質化的主要原因之一。"瓶內馴化"可有效控制玻璃質化，並增加瓶苗移出之存活率。本研究主要探討 BA (N^6-benzyladenine) 濃度、MS 鹽類強度、Auxin 種類及藥包紙封口對康乃馨苗生長與發根的影響。結果顯示，利用含有 0.5 mg/l BA 的 1/2 MS 基礎培養基，配合透氣性較高的藥包紙封口，可大量繁殖生長良好且無玻璃質化的康乃馨瓶苗；藥包紙封口處理可將玻璃質化苗回復爲正常苗，亦可降低正常苗培養時玻璃質化發生的比率；單層藥包紙封口較有利於玻璃質化苗的回復與控制，但不利於繁殖率，而苗長在單、雙層藥包紙封口之處理間差異並不顯著；1 mg/l IBA (indole-3-butyric acid)對康乃馨瓶苗之發根效果最佳；單、雙層藥包紙封口處理對瓶苗發根之影響並不顯著。本研究結果顯示，利用適當的培養基組成並配合藥包紙封口的通氣處理方式，可有效抑制康乃馨瓶苗玻璃質化及改進瓶苗品質。

關鍵詞：康乃馨、組織培養、玻璃質化、培養容器覆蓋物、發根。

前　言

玻璃質化(hyperhydricity, hyperhydration, vitrification or glassification)常見於草本與木本植物之組織培養。玻璃質化苗具有玻璃狀透明外觀之莖與葉，常造成繁殖率降低及瓶苗移出馴化時的困難，導致較長時間與較大花費的馴化過程，造成商業生產上的嚴重損失。玻璃質化的成因是由於數種物理、化學因子或兩者共同作用所導致，影響的層次包括培植體形態、生理及生化的變化，是組織培養上相當嚴重的問題，因而玻璃質化的控制是組織培養大量繁殖過程中急需解決的問題[3, 8, 9, 10, 11, 23, 24, 25]。

早期的研究指出乙烯(ethylene)、銨基鹽類(NH_4^+) 及其他離子(K^+、Ca^{++}與 Cl^-)的含量、碳水化合物之種類及濃度、水分有效性、Cytokinins (如 N^6-benzyladenine)的濃度、培養基的物理狀態、凝膠物質的品牌與濃度、空氣及培養容器中的相對濕度、溫度、繼代培養之代數與間隔時間及品種等因子均會影響玻璃質化的形成，其中多篇報告均提供抑制玻璃質化的有效方法，由於影響因子極多，再加上受害的作物種類繁多，每種作物所需的條件均有不同，因此組織培養的玻璃質化始終無法獲得完善

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1959 號。
2. 本所農藝系助理、助理及研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。
3. 本所農業工程系副研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

的控制。Paques (1987b, 1991)及 Ziv (1986, 1991)曾收集組織培養苗玻璃質化相關的報告，說明玻璃質化發生的原因、影響因子及控制的方法 (9, 11, 23, 24)。

康乃馨又名香石竹，屬石竹科多年生(或宿根性)草本植物，其栽培以頂芽(或莖梢)扦插繁殖爲主，組織培養是康乃馨種苗生產之主要方式，玻璃質化普遍發生於組織培養大量繁殖之過程，康乃馨亦不例外。早期的報告指出多項影響康乃馨玻璃質化苗形成的因子及控制的方法 (1, 2, 4, 6, 7, 8, 16, 18, 23, 24, 25, 26)。傳統微體繁殖爲防止污染及培養基水分喪失，均以低透氣性的材質加以密封，而許多學者認爲此方式會造成培養瓶內之高相對濕度、有毒氣體(如二氧化碳及乙烯)及致毒形式氧(toxic oxygen forms)的累積，往往導致氣孔及表皮蠟質層的發育異常或不具功能，常造成瓶外移植馴化的困難。近年來，越來越多的研究結果顯示，利用具有通氣性的培養容器覆蓋材質進行瓶內馴化，可有效地控制玻璃質化及增加瓶苗移出馴化的存活率，是一種值得嚐試的方法 (3, 4, 5, 14, 15, 16, 20, 21, 22, 23, 24)。

本研究利用不同培養基組成，配合不同材質及數量的培養容器覆蓋物，探討康乃馨玻璃質化苗的發生與回復情形及對正常苗生長的影響，同時探討不同 Auxin 對康乃馨正常與玻璃質化苗發根的影響，以期能降低玻璃質化組織培養苗在商業生產上所造成的嚴重損失。

材料與方法

一、材料

本試驗所選用之材料係採自田間康乃馨(*Dianthus caryophllus* L. cv. Opale)植株上之生長點及腋芽接種於固體培養基，經數週培養成爲幼苗，並經數次繼代培養繁殖足量幼苗作爲試驗之材料(圖 1)。

圖 1. 康乃馨大量繁殖所產生的正常苗與玻璃質化苗

Fig. 1. The normal and vitrified plantlets produced in mass-propagation medium of carnation *in vitro* culture.
N：normal plantlets；V：vitrified plantlets

二、培養基成份、培養材料及處理方法

康乃馨芽體繼代培養基以 MS (Murashige & Skoog, 1962) 爲基本配方，其中鐵鹽及有機成份均維持全量，其餘無機成份則改爲半量，再添加 0.5 mg/l BA (N^6-benzyladenine)、3 %蔗糖及 0.9 %洋菜(Difco agar)，pH 值調至 5.7± 0.1 (簡稱 CN 培養基)[1, 2]，以 121℃、1.05 kg / cm^2 (15 1b / in^2) 之高溫高壓殺菌後，放冷備用。

培養基成份之測試以上述 CN 培養基爲主，依試驗項目之不同而改變其組成，其中 BA 濃度以 0.5 及 5 mg/l 進行比較；MS 無機鹽類強度則以全量與半量 (1/2 MS)進行測試；培養容器覆蓋物之試驗分別以兩張鋁箔紙(一般用法)與 1 或 2 張之藥包紙(早期醫院或診所中用來包藥之紙張)進行研究，鋁箔紙與藥包紙的大小約爲 110 cm^2；Auxin 種類及濃度則以 0.5 及 1 mg/l NAA (α-naphthaleneacetic acid)與 1 mg/l IBA (indole-3-butyric acid)進行比較，以上試驗主要探討康乃馨瓶苗之生長、玻璃質化苗的形成與回復及瓶苗發根的情形。

試驗用培養容器爲 500 ml 三角瓶(俗稱蘭花瓶；瓶口內徑爲 3.7 cm)，含 100 ml 培養基，其內接種 7 個(長約 1.0～1.5 公分)康乃馨小苗之莖梢或莖段，接種後置於 25±1℃之恆溫，以每日 16 小時照光(約 2,000 1ux)培養，培養 30 及 60 天後觀察記錄各處理之正常與玻璃質化苗的苗數、苗長及發根培植體數。玻璃質化苗之判別係以肉眼觀察，小苗或莖梢葉片呈現水浸透明狀爲準。

上述各試驗觀察所得之數據，利用 SAS 統計程式軟體進行分析，取其平均值及樣品標準偏差，並以 Least Significant Difference (LSD) test 測定比較處理間之差異，以 Microsoft Excel 電腦程式繪出圖形。

結　果

一、MS 鹽類強度、BA 濃度及培養容器覆蓋物對瓶苗生長之影響

表 1 顯示，在 0.5 mg/l BA 的處理條件下，基礎培養基爲 MS 全量鹽類時，鋁箔紙封口處理產生玻璃質化苗，而藥包紙封口處理則無玻璃質化苗，所有苗數雖以鋁箔紙封口處理較多(2.51 vs. 2.20 苗/培植體)，但差異並不顯著；苗長超過 2.5 cm 之正常苗比率則以藥包紙封口處理之 67.9 %較高，而鋁箔紙封口處理僅 45.4 %；苗長以藥包紙封口處理爲 4.97 cm，顯著較鋁箔紙封口處理之 3.89 cm 長。1/2 MS 鹽類之處理結果則與 MS 全量鹽類之處理結果相似(圖 2A、圖 2B)。表 1 的結果亦顯示，利用鋁箔紙封口時，MS 全量鹽類之處理雖然其所有苗數、正常苗比率及苗長方面與 1/2 MS 處理之差異均不大，但其玻璃質化苗比率(28.0 %)較 1/2 MS 的處理(3.4 %)高；在利用藥包紙封口的條件下，則 MS 全量與半量之處理其差異並不顯著。

表 1. MS 強度、BA 濃度與培養容器覆蓋物對康乃馨瓶苗生長的影響

Table 1. The influences of MS salts strength, BA concentration and vessel closure on proliferation of carnation shoot tip culture [z]

Treatment			Shoots per explant				Shoot length
BA (mg/l)	MS salts strength	Container closure (2 pieces)	Number (shoot≥1.0cm)	Normal (shoot≥1.0cm)	Normal (shoot≥1.0cm) %	Vitrified (shoot≥1.0cm) %	Normal (shoot≥2.5cm) cm
0.5	1	Aluminum foil	2.51[ay]	72.0	45.6[b]	28.0[b]	3.89[b]
0.5	1	Dispense paper	1.71[b]	100.0	67.9[a]	0.0[c]	4.97[a]
0.5	1/2	Aluminum foil	2.20[ab]	96.0	36.7[b]	3.4[c]	4.01[b]
0.5	1/2	Dispense paper	1.77[b]	100.0	66.5[a]	0.0[c]	5.26[a]
5	1/2	Aluminum foil	2.34[a]	0.0	0.0[c]	100.0[a]	—
5	1/2	Dispense paper	2.03[ab]	100.0	0.0[c]	0.0[c]	—
$LSD_{0.05}$			0.54		17.0	7.0	

[z] Culture medium：MS (or 1/2 MS) salts supplemented with 1 mg/l IBA, 3% sucrose, 0.9% agar and pH = 5.7. There were 5 replicates (7 explants per replicate) in each treatment and cultured for 60 days.

[y] Means with the same letter within each column are not significantly different at 5 % level by Least Significant Difference (LSD) test.

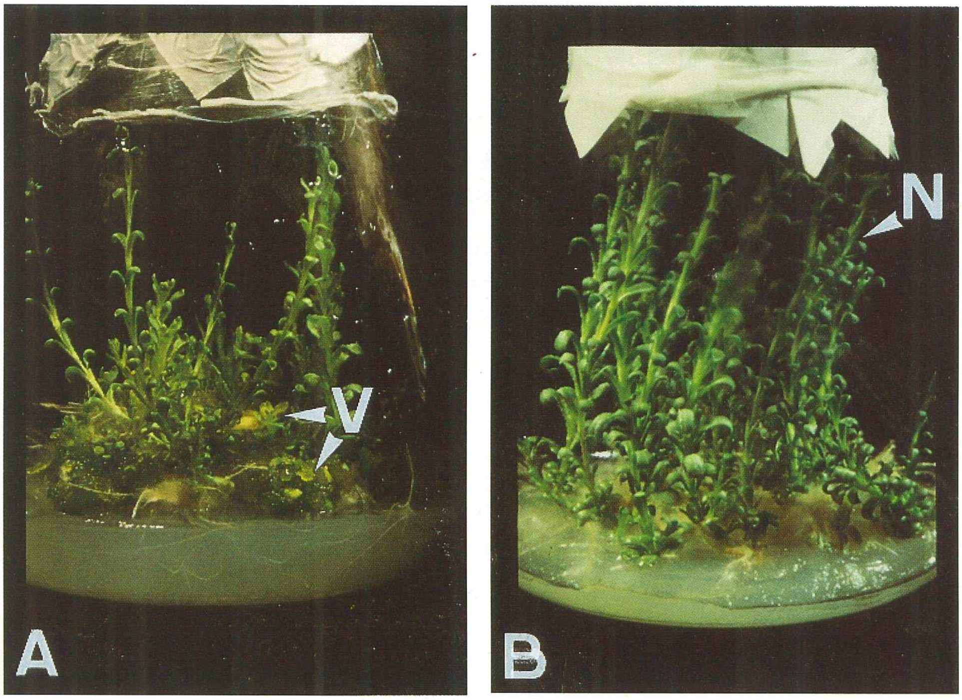

圖 2. 培養容器覆蓋物對康乃馨正常苗生長的影響

Fig. 2. The influence of vessel closure on proliferation of *in vitro* cultured carnation.

A：aluminum foil；B：dispense paper

N：normal plantlets；V：vitrified plantlets

在 1/2 MS 鹽類的條件下，比較 BA 濃度的處理差異可發現，5 mg/l BA 之處理可產生較多量的小苗，在鋁箔紙封口處理所形成的小苗其苗長大於 1.0 cm 爲 2.34 苗/培植體(大部分苗之苗長均小於 1.0 公分：資料未列)，但幾乎全爲玻璃質化苗，而藥包紙封口處理所形成的小苗其苗長大於 1.0 cm 爲 2.03 苗/培植體(大部分苗之苗長亦均小於 1.0 公分：資料未列)，雖較少於鋁箔紙封口處理，但差異並不顯著，且無玻璃質化苗產生；0.5 mg/l BA 與鋁箔紙封口處理組合上雖有玻璃質化發生，但比率較低僅 3.4 %，而 0.5 mg/l BA 與藥包紙封口處理組合則無玻璃質化發生。此外，在藥包紙封口處理的條件下，比較正常苗比率及苗長的結果發現，0.5 mg/l BA 與 5 mg/l BA 處理之苗長超過 2.5 cm 的正常苗比率，分別爲 66.5 及 0 %，且 0.5 mg/l BA 處理之苗長平均可達 5.26 cm，顯著大於 5 mg/l BA 之處理(1.27 cm：資料未列)。由此可知，添加 0.5 mg/l BA 之 1/2 MS 培養基，配合藥包紙封口處理可形成高品質的康乃馨瓶苗(圖 2B)，若以增殖做爲考量，則可利用較高濃度之 BA 誘導產生大量的小苗，但必須配合藥包紙封口，否則誘導出之苗可能均爲無用之玻璃質化苗。

二、藥包紙封口對玻璃質化苗回復及正常苗生長之影響

本試驗利用不同張數之藥包紙封口所造成培養容器通氣性的差異，探討玻璃質化苗回復爲正常苗及正常苗生長的影響。表 2 的結果顯示，就玻璃質化苗回復爲正常苗的情形來看，以莖梢作爲培植體時，雙層藥包紙封口的處理每個培植體可形成 2.41 苗，雖較單層藥包紙封口的處理(1.72 苗/培植體)產生較多的小苗，但正常苗比率則較低(33.7 vs. 47.9 %)，而在正常苗長的比較上，則以單層藥包紙封口之處理(2.10 cm)大於雙層之處理(1.73 cm)；若以莖段作爲培植體時，雙層藥包紙封口處理的苗數雖較單層藥包紙封口處理多，分別爲 2.83 與 1.98 苗/培植體，但正常苗比率則較低(30.1 與 42.1 %)，而在苗長的比較上，則單、雙層藥包紙封口處理間之差異並不顯著，分別爲 2.04 及 2.08 cm。由此可知，不論利用單、雙層藥包紙封口處理配合以莖梢或莖段作爲培植體，均可使玻璃質化苗回復成爲正常苗，其比率可達 30.1～47.9 % (表 2、圖 3A)。

表 2. 培植體來源與覆蓋容器之藥包紙張數對康乃馨瓶苗生長的影響

Table 2. The influences of normal and vitrified explant and piece of dispense paper as vessel culture on proliferation of carnation plantlets *in vitro* culture [z]

Treatment			Shoots per explant			Normal shoot length
Explant		Dispense paper	Number	Number (%)	Vitrified (%)	(cm)
Vitrified	Shoot tip	1 piece	1.72[cy]	47.9[a]	52.1[b]	2.10[a]
	Shoot tip	2 piece	2.41[b]	33.7[b]	66.3[a]	1.73[b]
	Nodal segment	1 piece	1.98[c]	42.1[ab]	57.9[ab]	2.04[a]
	Nodal segment	2 piece	2.83[a]	30.1[b]	69.9[a]	2.08[a]
$LSD_{0.05}$			0.28	13.0	13.0	
Normal	Shoot tip	1 piece	1.24[c]	97.0[a]	3.0[b]	4.14[a]
	Shoot tip	2 piece	1.83[b]	80.0[b]	20.0[a]	4.40[a]
	Nodal segment	1 piece	1.44[bc]	93.8[a]	6.2[b]	2.66[b]
	Nodal segment	2 piece	2.43[a]	69.9[b]	30.1[a]	2.27[b]
$LSD_{0.05}$			0.41	11.0		

[z] Basal medium：1/2 MS salts supplemented with 0.5 mg/l BA, 1 mg/l IBA, 3% sucrose, 0.9% agar and pH = 5.7. There were 9 replicates (7 explants per replicate) in each treatment. Developing shoots larger than 1.0 cm were recorded after 60 days of culture.

[y] Means with the same letter within each column are not significantly different at 5 % level by Least Significant Difference (LSD) test.

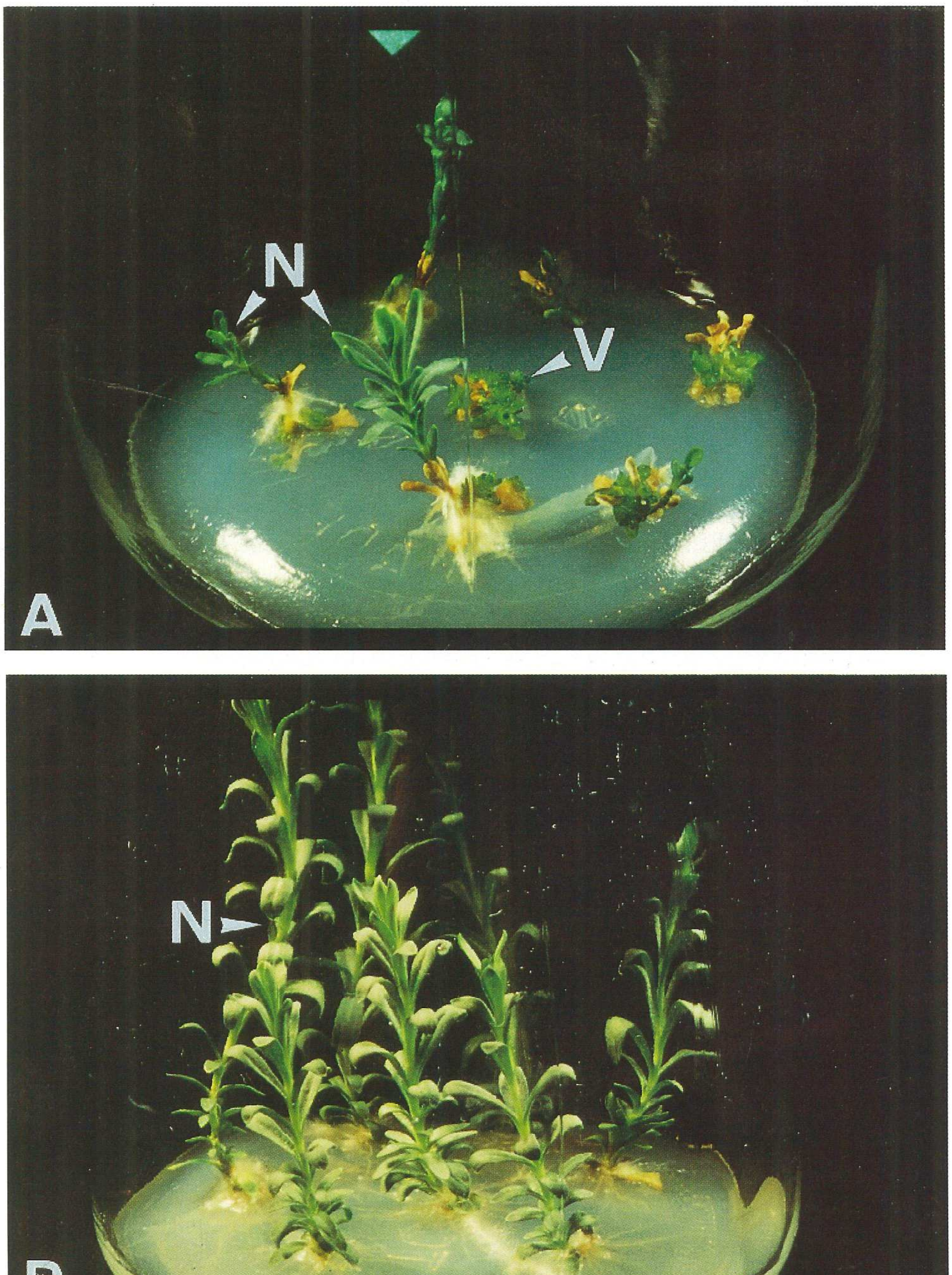

圖 3. 藥包紙對康乃馨正常苗生長與玻璃質化苗回復的影響

Fig. 3. The influence of dispense paper as vessel closure on recovery of vitrified plantlets and on growth of normal plantlets of carnation culture.

A：The normal plantlets were produced from vitrified shoot tip culture of carnation.

B：The normal plantlets were produced from normal shoot tip culture of carnation.

N：normal plantlets；V：vitrified plantlets

就正常苗生長的情形來看，表 2 的結果顯示，以莖梢作爲培植體時，雙層藥包紙封口處理爲 1.83 苗/培植體，雖較單層藥包紙封口處理(1.24 苗/培植體)產生較多的小苗，但也產生較高比率的玻璃質化苗(20.0 vs. 3.0 %)，正常苗長則分別爲 4.40 及 4.14 cm，並無顯著差異；若以莖段作爲培植體時，其結果的趨勢與莖梢培養相同。當覆蓋條件相同時，比較莖梢及莖段培養的差異時可發現，在單層藥包紙封口的條件下，雖然莖梢培養之苗數、正常苗及玻璃質化苗比率與莖段培養的差異均不顯著，但其正常苗長則顯著較長(4.14 vs. 2.66 cm)；而在雙層藥包紙封口的條件下，莖段培養所產生的苗數爲 2.43 苗/培植體，顯著大於莖梢培養的結果(1.83 苗/培植體)，而正常苗及玻璃質化苗比率則差異不顯著，正常苗長的比較上仍以莖梢培養大於莖段培養(4.40 vs. 2.27 cm) (表 2)。本研究結果顯示，在瓶苗育成上應以莖梢培養爲主要培植體(圖 3B)，若以增殖爲考量時則應以莖段培養爲主要培植體。

三、Auxin 及藥包紙封口處理對康乃馨正常及玻璃質化苗發根之影響

本試驗利用三種 Auxin 之處理，配合不同張數之藥包紙進行測試瓶苗之發根能力。圖 4 顯示接種 30 天後的結果，就發根培植體比率的結果而言，不論是正常苗或玻璃質化苗培養，單、雙層藥包紙封口之處理間均無顯著的差異。在正常苗培養時，1 mg/l IBA 處理的效果最佳，平均可達 81.0 %，而 0.5 與 1 mg/l NAA 之處理較差分別爲 71.4 與 61.4 %，其中 1 mg/l IBA 與 1 mg/l NAA 兩處理間具有顯著的差異，而 0.5 mg/l NAA 之處理與其餘兩處理間均無顯著的差異；若以玻璃質化苗做爲培植體，其發根的效果以 1 mg/l IBA 處理的效果平均爲 59.6 %最佳，顯著高於 0.5 mg/l NAA 處理的 18.6 %及 1 mg/l NAA 處理的 21.4 %。接種 60 天後的結果則顯示，在培養正常苗時，1 mg/l IBA 之處理平均發根率可達 97.6 %，0.5 mg/l NAA 之處理次之爲 92.9 %，而 1 mg/l NAA 之處理稍差爲 85.7 %，但三者間的差異並不顯著(圖 5)；若以玻璃質化苗做爲培植體，其發根的效果仍以 1 mg/l IBA 處理的 83.3 %效果最佳，顯著高於 0.5 mg/l NAA 處理的 76.1 %與 1 mg/l NAA 處理的 69.0 %，其中 1 mg/l IBA 與 1 mg/l NAA 兩處理間具有顯著的差異，而 0.5 mg/l NAA 之處理與其餘兩處理間均無顯著的差異。由此可見，正常苗之發根能力較玻璃質化苗佳；1 mg/l IBA 之處理對瓶苗的發根效果較 0.5 及 1 mg/l NAA 之處理好。

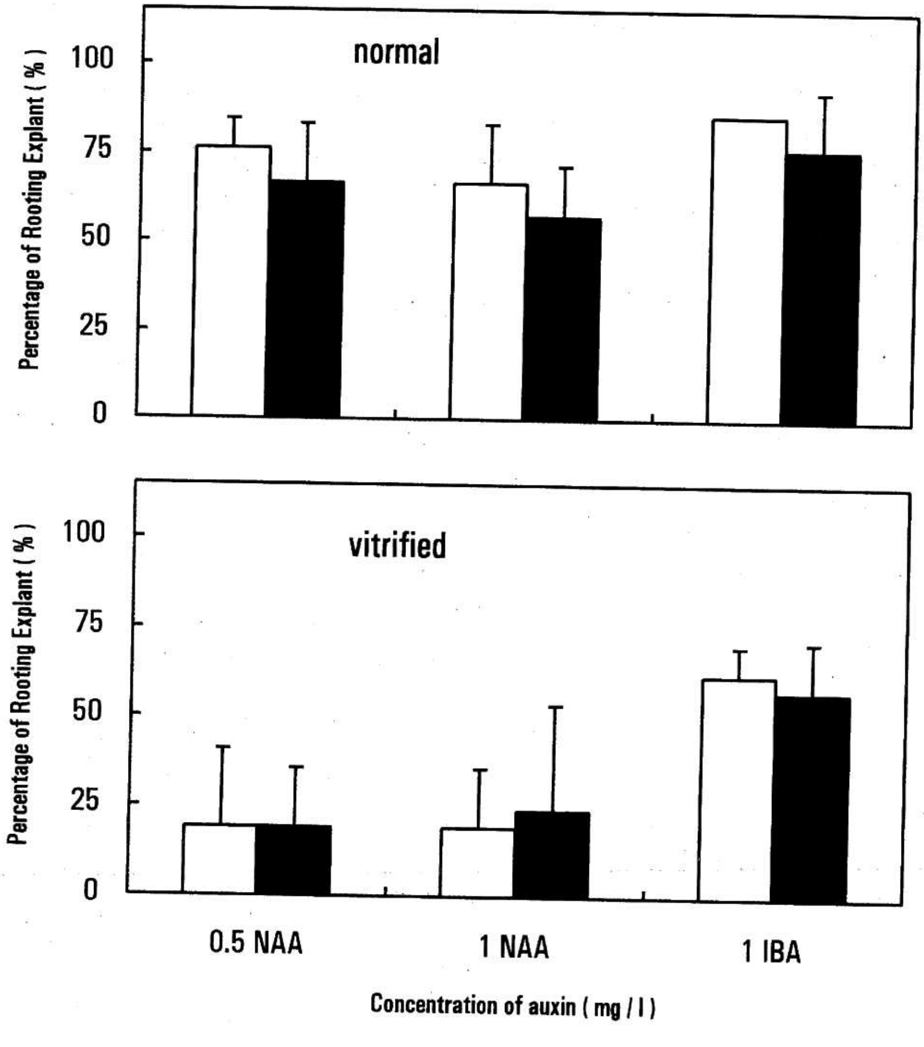

圖 4. Auxin 及藥包紙封口對康乃馨正常與玻璃質化苗發根的影響

□：單層藥包紙；■；雙層藥包紙；處理結果以平均值標品標準偏差表示(3 重複，每重複 7 個培植體)。培養後 30 天調查發根之培植體數。

Fig. 4. The influence of auxin and dispense paper of the culture vessel on rooting of normal and vitrified shoot tip culture of carnation. Values was represented by mean±SE of 3 replicates (7 explants per replicate) per treatment. Data was recorded 30 days after culturing.

□ : 1 piece of dispense paper ; ■ : 2 pieces of dispense paper

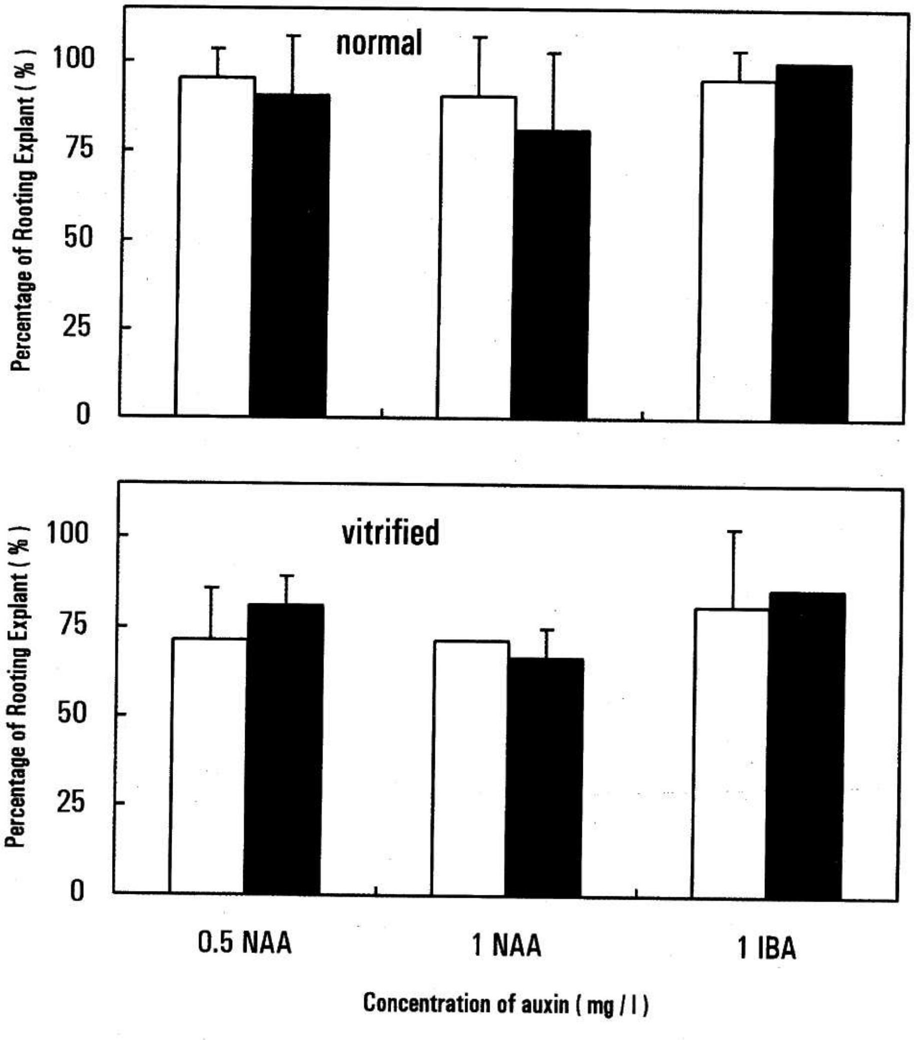

圖 5. Auxin 及藥包紙封口對康乃馨正常與玻璃質化苗發根的影響
□：單層藥包紙；■：雙層藥包紙；每處裡結果以平均值±樣品標準偏差表示(3 重複，每重複 7 個培植體)。培養後 60 天調查發根之培植體數。

Fig. 5. The influence of auxin and dispense paper of the culture vessel on rooting of normal and vitrified shoot tip culture of carnation. Values was represented by mean ±SE of 3 replicates (7 explants per replicate) per treatment. Data was recorded 60 days after culturing.
□：1 piece of dispense paper；■：2 pieces of dispense paper

討　論

組織培養大量繁殖是種苗商業生產上極爲重要的一環，爲求最大的繁殖倍率，生產者往往採用高濃度的 Cytokinins 或利用液體培養以達到目的，因而常常在培養過程中產生玻璃質化，導致瓶苗移出時馴化的困難與嚴重的損失。此外，爲防止污染及培養基水分喪失，利用低透氣性的材質(如鋁箔紙)加以密封，造成高相對濕度、有毒氣體(如CO_2及C_2H_4)及致毒形式氧(toxic oxygen forms)的累積，往往導致氣孔及表皮蠟質層的發育異常或不具功能，亦是導致玻璃質化形成的因子之一[9, 11, 16, 23, 24]。

Leshem (1988)等學者指出，當其他的誘因如低濃度洋菜的培養基、高相對濕度及高濃度的NH_4^+的條件下，若沒有 Cytokinins 的存在，玻璃質化並不會產生[8]。Phan (1991)、Paques (1987 a, 1987c)及古與蔡(1994 a)均指出，玻璃質化苗的比例隨著BA濃度的增高而增加，銨態氮比例的增加亦有增高玻璃質化的趨勢[1, 10, 12, 13, 21]。本研究比較 0.5 與 5 mg/l BA 及全量與半量 MS 之處理間的差異，獲得相似的結果(表 1)。Capellades (1990)指出，較低的相對濕度(75% RH)配合較高的光強度(80 μmole/s/m^2)能有效抑制玫瑰瓶苗之玻璃質化。Capellades 等學者認爲，增加光強度及降低濕度可產生如瓶外馴化的效果，更進一步證明利用"瓶內馴化(*in vitro* hardening)"可減少由瓶內移出過程中所造成的損失，並能縮短瓶外馴化的時間[3]。同樣地，許多報告的結果指出，利用高透氣性的培養容器覆蓋物或降低培養環境的相對濕度，均能有效的抑制組織培養苗之玻璃質化現象[4, 5, 14, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 26]。本研究結果顯示，培養容器覆蓋物會影響玻璃質化的形成、苗數的多寡及苗長，此結果與上述報告之結果相似。利用含有 0.5 mg/l BA 之 1/2 MS 基礎培養基，若能配合透氣性較高之藥包紙覆蓋瓶口，可有效的控制康乃馨瓶苗之玻璃質化，並大量繁殖生長良好之康乃馨瓶苗(表 1、圖 2B、圖 3B)。

Sato (1993)指出，許多報告中所提供的方法均可影響玻璃質化苗的形成率，但是對於玻璃質化苗的回復則毫無影響；將康乃馨玻璃質化苗培養於含有 3 g/l Bacto-peptone之培養基，可成功地使其葉表產生如正常苗般的表皮層蠟質而回復爲正常苗，且移植成功率可達 92 %[17]。Paques (1987c)指出，玻璃質化是可誘導且爲可逆的現象，藉由移植到不同培養基或培養環境下可回復爲正常苗，然而其培養基及環境則有不同的組成與條件[12]。大部分的報告只探討玻璃質化的控制，較少提及將玻璃質化苗回復爲正常苗的研究。本研究探討不同的培養容器覆蓋物對玻璃質化苗回復及正常苗生長的情形，結果顯示利用 CN 培養基並配合藥包紙封口的處理，可將玻璃質化苗回復爲正常苗，亦可降低正常苗培養時玻璃質化發生的比率；單層藥包紙封口具有較高的透氣性，對於玻璃質化苗的回復較有幫助，但會抑制正常瓶苗的增殖，而玻璃質化莖梢在雙層藥包紙封口的條件下回復情形較差，本研究與前述之研究也有相似的結果(表 2、圖 3A、圖 3B)。利用藥包紙做爲培養容器覆蓋物時，莖梢培養可形成健壯的瓶苗，而莖段培養則可形成大量的小苗，作者建議於康乃馨瓶苗之生產利用上，利用莖段培養配合藥包紙封口處理以進行增殖小苗，而後取其莖梢且配合藥包紙封口處理進行瓶苗育成的工作。

藉由控制培養基的水分潛勢、相對濕度、培養容器的覆蓋物、NH_4^+與Ca^{++}的含量、生長調節劑、抗蒸散劑(anti-transpirants)或抗玻璃質化劑(anti-vitrification agent) 等處理，均可降低玻璃質化的比率，然而所有的措施均會造成瓶苗品質及繁殖率的降低[12, 21, 23]。Dillen與Buysens (1989)指出，滿天星*(Gypsophila paniculata)*玻璃質化出現在組織培養的緩慢增殖期(lag phase)，而利用自製的通氣設備可抑制此時期發生玻璃質化，且後續的高相對濕度及低透氣性培養環境下，也不會產生玻璃質化；若全程採用此培養設備，雖可降低玻璃質化比率，但苗長則受影響而減少[5]。Rossetto (1992)指出，利用自製的培養容器覆蓋物以增加透氣性，可成功減少玻璃質化且不影響瓶苗的形成與生長，Reborts在玫瑰與菊花的研究上，也獲致相似的結果[15]。Yue (1993)等學者指出，增加透氣及降低相對濕度，可促進天竺葵(geranium)的生長並降低蒸散作用率，而不影響光合作用率，作者更指出，此兩種處理有礙發根，宜在發根後再施以處理，以促進瓶苗的生長與馴化效果[22]。本研究結果指出，將莖梢培養於含有 0.5 mg/l

BA 之 1/2 MS 培養基的條件下，鋁箔紙封口處理之苗數雖大於藥包紙封口之處理，但差異並不顯著，而在正常苗長的比較上，則是以藥包紙封口之處理顯著較長(表 1)；單、雙層藥包紙封口處理對正常苗長之影響並不顯著，但在苗數上則有顯著的差異(表 2)；單、雙層藥包紙封口處理對正常或玻璃質化苗之發根均無顯著差異；此外，本研究發現藥包紙封口處理易使培養基的水分喪失，以致在培養 60 天後小苗不易由瓶內取出或根部糾結成團，造成操作上的困難，因此瓶內馴化階段的培養時間應加以控制。控制 MS 鹽類強度、BA 濃度及培養容器覆蓋物可有效抑制玻璃質化，而繁殖率的降低只出現在透氣性最大的單層藥包紙封口處理，但正常瓶苗的生長在藥包紙封口的處理下並未受抑制，反而有促進的效果；1 mg/l IBA 對瓶苗的發根效果最佳，而單、雙層藥包紙封口處理對瓶苗發根之影響並不顯著，但在考量瓶苗增殖及污染率(20.5 vs. 11.1 %：資料未列)的情況下，仍以採用雙層藥包紙封口爲宜。

組織培養苗移植到溫室環境下存活不易，其原因在於嚴重的玻璃質化苗，因而在馴化過程中必須花費較高的成本及較長的時間，導致種苗產業極大的損失。藉由控制培養基組成及培養條件可降低玻璃質化的比率，然而所有的措施均會造成瓶苗品質及產量的降低。瓶內馴化(acclimatized *in vitro*；*in vitro* hardening)主要在於降低瓶內的相對溼度及增加氣體的交換率，如此可增加葉表蠟質的形成及氣孔的功能，藉以避免瓶苗產生玻璃質化現象，並可增加瓶外馴化時之光合作用率及降低蒸散作用率，以利瓶苗在瓶外馴化時存活率的增加與減少瓶苗的損失 [14, 19, 20, 21, 23]。本研究結果建議，康乃馨組織培養大量繁殖系統，利用控制培養基組成並配合藥包紙封口之處理方式，可有效抑制玻璃質化、促使玻璃質化苗回復及增加瓶苗的品質。瓶內馴化技術可減少組織培養苗商業生產上的損失，結合組織培養與環境控制技術以進行瓶內馴化是未來發展的課題，而如何控制玻璃質化且又不影響增殖效率亦是研究的重點之一。

引用文獻

1. 古新梅、蔡新聲。1994a。培養基組成分對康乃馨試管苗玻璃質化的影響。中華農業研究 43(1) : 51-62。
2. 古新梅、蔡新聲。1994b。繼代培養對康乃馨試管苗玻璃質化的影響。中華農業研究 43(3) : 308-319。
3. Capellades, M., R. Fontarnau., C. Carulla, and P. Debergh. 1990. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue-cultured *Rose multiflora*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115 : 141-145.
4. Cassells, A. C., and C. Walsh. 1994. The influence of gas permeability of the culture lid on calcium uptake and stomatal function in *Dianthus* microplants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 37(2) : 171-178.
5. Dillen, W., and S. Buysens. 1989. A simple technique to overcome vitrification in *Gypsophila paniculata* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 19 : 181-188.
6. Huang, L. C., C. Kohashi, R. Vangundy, and T. Murashige. 1995. Effects of common components on hardness of culture media prepared with Gelrite. In Vitro Cell. Dev. Biol. 31 : 84-89.
7. Kever, C., and T. Gaspar. 1986. Vitrification of carnation *in vitro* : change in water content, extracellular space, air volume and ion levels. Physiol. Veg. 24(6) : 647-653.
8. Leshem, B., E. Werker, and P. D. Shalev. 1988. The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. Ann. Bot. 62 (3) : 271-276
9. Paques, M. 1991. Vitrification and micropropagation : causes, remedies and prospects. Acta Horti. 289:283-290.
10. Paques, M., and Ph. Boxus. 1987a. Vitrification：a phenomenon related to tissue water content ? Acta Horti. 212 : 245-252.
11. Paques, M., and Ph. Boxus. 1987b. "Vitrification" ： review of literature. Acta Horti. 212 : 155-166.
12. Paques, M. Ph. Boxus, and M. Dulos. 1987c. Vitrification : an induceable and reversible phenomenon. Acta Horti. 212 : 253-258.
13. Phan, C. T. 1991. Vitreous state *in vitro* culture : ethylene versus cytokinin. Plant Cell Rep. 9 : 517-519.
14. Ritchie, G. A., K. C. Short, and M. R. Davey. 1991. *In vitro* acclimatization of chrysanthemum and sugar beet plantlets by treatment with paclobutrazol and exposure to reduced humidity. J. of Exp. Bot. 42(245) : 1557-1563.
15. Rossetto, M. 1993. "Aeration" control vitrification. Agricell Rep. 20(4) : 29.
16. Sankhla, D. 1994. Toxic oxygen accumulation and hyperhydricity. Agricell Rep. 23(2) : 11.

17. Sato, S., M. Hagimori, and S. Iwai. 1993. Recovering vitrified carnation *(Dianthus caryophyllus* L.*)* shoots using Bacto-peptone and its subfractions. Plant Cell Rep. 12 : 370-374.

18. Seung, H. W., and J. M. Park. 1993. Multiple shoot culture of *Dianthus caryophyllus* using mist culture system. Biotechnology Techniques 7(10) : 697-702.

19. Short, K. C., J. Warburton, and A. V. Roberts. 1987. *In vitro* hardening of cultured cauliflower and chrysanthemum plantlets to humidity. Acta Horti. 212 : 329-334.

20. Smith, E. F., A. V. Roberts, and J. Mottley. 1990. The preparation *in vitro* of chrysanthemum for transplantation to soil. 3. Improved resistance to desiccation conferred by reduced humidity. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 21 : 141-145.

21. Wardle, K., E. B. Dobbs, and K. C. Short. 1983. *In vitro* acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108 : 386-389.

22. Yue, D., A. Gosselin, and Y. Desjardins. 1993. Effects of forced ventilation at different relative humidities on growth, photosynthesis and transpiration of geranium plantlets *in vitro*. Can. J. Plant Sci. 73 : 249-256.

23. Ziv, M. 1986. *In vitro* hardening and acclimatization of tissue culture plants. pp. 187-196. In : Plant Tissue Culture and its Agriculture Applications. (Eds. by Withers, L. A. and P. G. Alderson.). Butterworths London.

24. Ziv, M. 1991. Vitrification : Morphological and physiological disorders of *in vitro* plants. pp. 45-69. In : Micropropagation : Technology and Application. (Eds. by Debergh, P. C. and R. H. Zimmerman) Kluwer Academic Pub. Dordrecht.

25. Ziv, M., and T. Ariel. 1992. On the relation between vitrification and stomatal cell wall deformity in carnation leaves *in vitro*. Acta Horti. 314 : 121-129.

26. Ziv, M., G. Meir, and A. H. Halevy. 1983. Factors influencing the production of hardened glaucous carnation plentlets *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2 : 55-65.

Effects of Medium Composition and Vessel Closure on The Hyperhydricity and Rooting of Carnation *In Vitro* Culture[1]

Uei-Chin Chen[2], Yih-Juh Shiau[2], Chien-Chou Lai[3] and Hsin- Sheng Tsay[2]

Summary

Hyperhydricity (hyperhydration, vitrification or glassification) is a phenomena frequently found in micropropagation of herbaceous and woody plants and it causes serious problems for industrial production. A low-ventilation vessel closure such as aluminum foil is commonly used for preventing contamination and dehydration in plant tissue culture however it might be one of the major reasons for causing hyperhydricity. It is thought *in vitro* hardening is a good way to prevent hyperhydricity and to increase the survival rate in transplanting *plantlets* to the field. The effect of BA concentration, strength of MS salts, types of auxin and different vessel closures for improving *in vitro* hardening on growth and rooting of carnation were investigated in this study. The results indicated that the half strength MS salts supplemented 0.5 mg/l BA and used high ventilation dispense paper as the vessel closure produced the highest number of normal plantlets with good growth. Although using single layer dispense paper as vessel closure reduced hyperhydric rate and had a good recovery for hyperhydric explants, it also resulted in decreasing of proliferation rate. There were no significant effect by using one or two layers of dispense paper on growth of shoot length as well as rooting capability. IBA (1 mg/l) was better than NAA (0.5 and 1 mg/l) on root inducing effect. The results of this study presented that hyperhydricity of *in vitro* proliferation carnation could be prevented and improved the quantity and quality of plantlets furthermore using a suitable medium composition and culture vessel closure.

Key words：Carnation, Tissue culture, Hyperhydricity, Vessel closure, Rooting.

---

1. Contribution No. 1959 from Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Respectively, Research Assistant, Research Assistant, and Senior Agronomist, Department of Agronomy, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

3. Associate Researcher, Department of Agricultural Engineering, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）47(4)：377～387（1998）

甜瓜逢機增幅多型性核酸(RAPD)標誌分析及其遺傳特性之研究[1]

劉邦基 張有明 許華欣 鄭櫻慧 張慧如 蕭吉雄[2]

摘要：本研究以一組包含三個世代之甜瓜族群爲材料，進行甜瓜的逢機增幅多型性核酸(random amplified polymorphic DNA, RAPD)分析，並探討其特性。試驗中證明甜瓜模板核酸在 PCR 反應前先以限制酶處理會改變 RAPD 條帶數目，使分析圖譜發生變化，增加多型性之顯示機率，因此可提高分析效率。此種酵素所引起的條帶增減現象極爲穩定，其中具有多型性者在後代中之分離情形並符合孟德爾遺傳原理。本報告進一步對酵素處理所引起的圖譜變化提出解釋。配合限制酶的使用，更可證明RAPD基因座之獨立性，增加對RAPD的瞭解。本報告並對RAPD標誌所顯示的甜瓜遺傳特色加以探討，以爲遺傳連鎖分析與建立連鎖圖之基礎。

關鍵詞：甜瓜、聚合酶連鎖反應、逢機增幅多型性核酸標誌、遺傳分析。

前　　言

甜瓜(*Cucumis melo L.*)爲重要之蔬果類作物，其種類繁多[2]，本省所栽培者包括東方甜瓜、洋香瓜、哈蜜瓜和越瓜。甜瓜育種爲農業試驗所之重要研究項目[3]，本所所收集之種源亦極豐富，便於各種研究。雖然已知甜瓜之變異性極爲豐富，但以分子生物學爲基礎之遺傳學研究，至今尚僅限於基本方法及少數遺傳特性之探討[4, 20, 35]，顯然極爲不足，有必要加強進行。本研究擬建立甜瓜分子標誌資料，藉以探討其遺傳特性，期能有助於提高遺傳與育種研究之效率。逢機增幅多型性核酸(random amplified polymorphic DNA)是應用 PCR (polymerase chain reaction)方法所測得的生物遺傳變異，屬於分子標誌的一種，簡稱 RAPD[31]，是研究生物遺傳的有利工具，由於分析方法簡便，廣受學者使用，目前已應用在多種植物與微生物的遺傳研究上[11, 13, 26, 28, 29, 30, 32]。本研究在進行RAPD分析時，將限制酶應用於分析上，以探討其對分析效果之影響，並以一組包含三個世代的甜瓜族群建立所需的RAPD標誌資料，藉以探討甜瓜的遺傳特性，作爲進一步研究之基礎。

材料與方法

一、 植物材料

用於分析之甜瓜材料包括：SLK-V-052 品種之 S_4 自交系(屬東方型甜瓜，供作母本)和天香品種之 S_6 自交系(屬洋香瓜型，供作父本)各一株、該兩植株之雜交後代(F_1)五株、其中一 F_1 植株所產生的 80

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1960 號。
2. 本所園藝系副研究員、助理研究員、助理、助理研究員、約雇助理、研究員兼系主任。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

棵 F_2 後代(從三百餘株中逢機選出，後來有 3 株死亡，剩 77 株)。父母本與 F_1 植株係種植於田間，F_2 族群則種植於溫室中。試驗時以嫩葉作爲萃取核酸之材料。

二、 植物核酸的萃取方法及其供作 PCR 反應模板前之處理

根據 Dellaporta 等人[8]所發表的 DNA 萃取方法，經本實驗室加以局部修改後，用以萃取所需的甜瓜 DNA。主要修改之處是在萃取過程後期加入酚洗步驟以提高 DNA 純度。以 TKO 100 Fluorometer (Hoefer Scientific Instruments) 測定 DNA 濃度。

所萃取之 DNA 或直接作爲 PCR 的反應模板，或先以一種限制酶切割後再經一次酚洗與酒精沉澱以去除限制酶之干擾再供作反應模板。用以切割甜瓜 DNA 之限制酶包括 *Hae*Ⅲ, *Cfo* Ⅰ, *Taq* Ⅰ, *Nde*Ⅱ, *Rsa* Ⅰ, *Alu* Ⅰ 和 *Msp* Ⅰ 等七種(Boehringer Mannheim Biochemica)。

三、 PCR 反應程式及方法

分析時根據 Skroch 和 Niehuis[25]、Witter[33]等所發表之方法，並採用 Idaho Technology 公司之#1605 型 Air Thermo-Cycler 進行 PCR 反應。使用 Operon 10-mer kits (Operon Technologies, Inc.)之 10-mer 核酸引子，以及 HT Biotechnology 之 Super Taq 聚合酵素。最終之反應物 1.4%之瓊脂膠體進行電泳分離，經 ethidium bromide 染色後以 Polaroid 相機拍照，供作判讀與分析之依據。

四、 多型性 RAPD 標誌之篩選與確認

多型性 RAPD 標誌之篩選係根據父母本及 F_1 植株所呈現之電泳條帶加以研判。用於分析之甜瓜 DNA，包括採用上述酵素先予切割以及未酶解者，共有八種處理方式。每一種引子皆首先用於測試該八種處理方式之條帶圖譜，以觀察其異同，增加多型性之發現機率。凡電泳結果顯示父母本之一方有條帶，另一方在相同位置無條帶者，即認定該條帶之變化係代表一個具有多型性 RAPD 基因座(RAPD-locus)之存在。多型性基因座中，若產生 F_2 族群之 F_1 植株亦具有相對應之條帶，則進行 F_2 族群分析，再以卡方分析檢測其分離情形。

結　果

一、 PCR 反應方法及限制酶對甜瓜 RAPD 分析效果之影響

本試驗比較多種不同 PCR 反應條件，以探討最適合甜瓜的 RAPD 分析方法，發現反應液中的鎂離子濃度若提高爲 3 mM，並以 42℃爲煉合(annealing)溫度，效果最理想，其他因素之變化對分析結果之影響則較不顯著，此與 Skroch 和 Niehuis[25]根據相似機型所獲之結論相似。在甜瓜分析中，每一逢機引子可產生 1～15 個條帶，以 3～6 條帶者最普遍。經多次重複分析證明各條帶之再現性達 80～100 %，足見所建立之方法具有極佳之可靠性。

本試驗除了使用未經限制酶切割之模板進行 PCR 反應，尙以切割後之核酸爲模板進行分析。從兩者之比較中，發現酵素處理會改變電泳圖譜形態，並可提供更多的遺傳變異資料(圖 1、表 1)。詳言之，與未經酵素切割之處理相比較，酵素不僅會導致某些條帶消失，且會產生新條帶。曾有報告謂 PCR 易因高靈敏性造成條帶不穩定現象[18, 34]，然而本試驗中酵素所產生的影響顯然與此不同，因多次重覆分析已證明這種變化爲極穩定者，非屬實驗誤差。表 1 爲根據 50 條引子的分析結果之統計，顯示分析圖譜之變化方式因酵素種類而異。詳言之，在單一酵素的影響下，維持原先圖譜類型之機率僅爲 23.7%，產生新條帶之機率爲 16.3%，而造成部份條帶消失之機率則達 67.1%，因此條帶增減之機率共爲 83.4%，可見酵素對電泳圖譜的影響實不容忽視。比較同組處理之結果，可進一步發現酵素引起之條帶變化亦可因植株而異，當其在父母本間並非同步變化時，便會顯示新的多型性基因座。圖 1 爲親本和 F_1 世代經不同處理所得之電泳圖譜，其中以 *Nde*II 切割時可顯示一組多型性標誌，該標誌在未使用酵素時則無法顯示其多型性，可見酵素在 RAPD 分析上之價値；進一步分析更發現該多型性標誌在 F_2 族群中亦有分離現象(圖 2)，且經卡方分析顯示與孟德爾遺傳原理所估測之分離比(3：1)相符。

表 1. 限制酶處理對 RAPD 條帶圖譜的改變機率 [z]

Table 1. The possibility of RAPD banding pattern change caused by one restriction enzyme [z]

No difference		23.7 %
Caused band (s) disappearance	67.1 %	
Produced new band(s)	16.3 %	
	83.4 %(subtotal)	

[z] Based on the result of analysis using 50 primers.

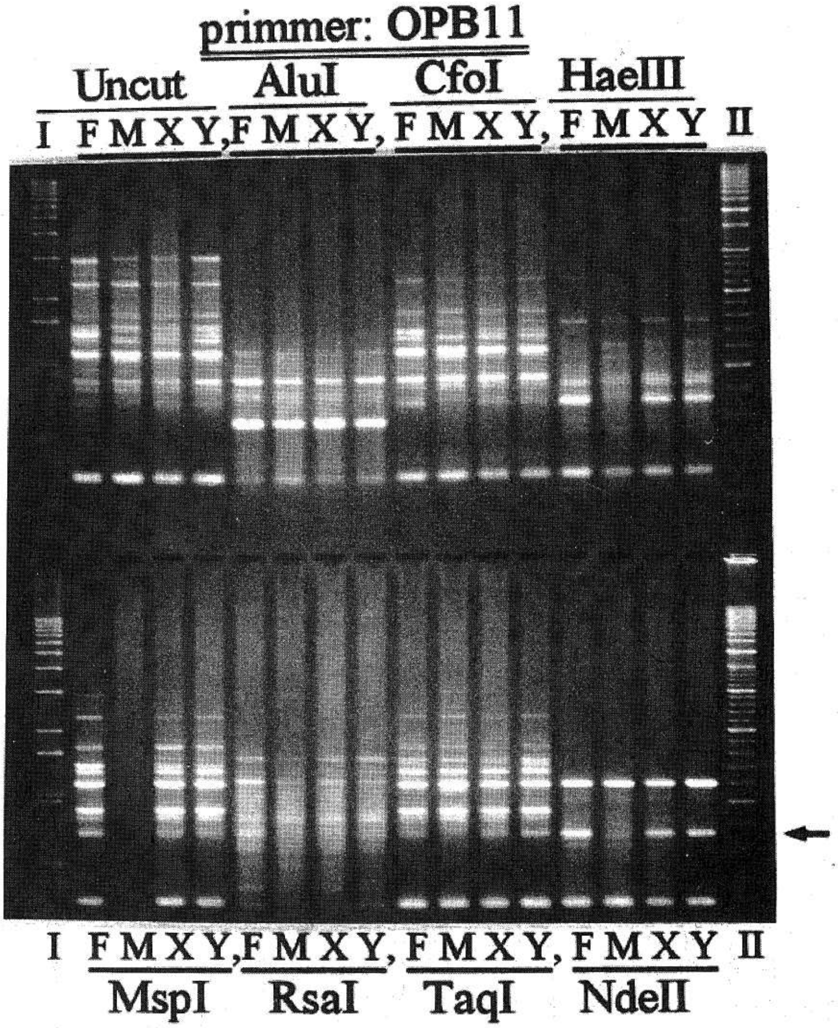

圖 1. 甜瓜模版核酸以不同限制酶切割後再以 OPB11 引子進行分析所呈現的 RAPD 譜圖式樣之變化情形

Fig. 1. Variation of RAPD banding patterns in *Cucumis melo* caused by different restriction enzymes which were used to digest template DNA before PCR. Uncut : template DNAs were not digested by restriction enzyme, F : female parent, M : male parent, X and Y : F1 hybrids, I and II : 1kb and 200 bp DNA ladders, respectively. All the template DNA were primed with the 10-mer primer OPB11

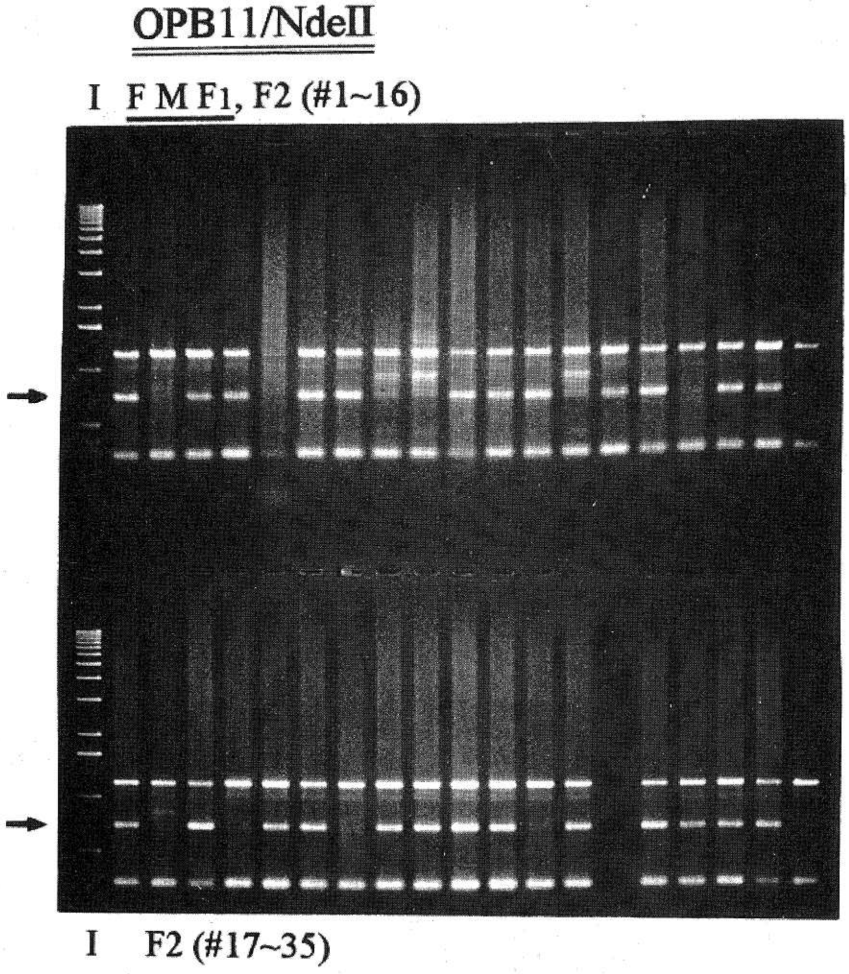

圖 2. 甜瓜多型性條帶(箭頭指處)在 F_2 族群中之分離情形

Fig. 2. Segregation of a polymorphic band (arrow pointed) in the F2 population of *Cucumis melo.* The template DNAs were digested with the restriction enzyme *Nde*II before PCR, and all the DNAs were primed with the 10-mer primer OPB11. F：female parent, M：male parent, F_1：hybrid, F2 # 1～35：F_2 plants derived from the F_1 plant.

二、甜瓜之 RAPD 及其多型性現象

圖 3 爲 100 個逢機引子產生的所有條帶之長度分佈情形，由圖可知，無論是否使用酵素，所增幅之條帶大部份介於 0.5～2.0kb 之間，且其分佈趨勢十分相似；雖如此，酵素處理者所產生的長條帶則較少，尤以＞ 1.5 kb 者最明顯，顯示酶解會明顯降低長條帶的出現機率，進一步觀察各電泳照片亦發現酵素對圖譜式樣之影響係以長條帶區域爲主。

以親本間之差異作爲多型性依據，詳細調查上述 100 條引子之分析結果，顯示甜瓜 RAPD 標誌的偵測效率與酵素有極大關係。由表 2 可知，未使用酵素時，可偵測到多型性之引子未及 1/4(24 條)，所建立之多型性標誌僅 68 個；若將本試驗中七種酵素的使用效果一併列入計算，則可測得多型性現象之

引子數增為 84 個，僅剩 16 個引子無法提供變異資料，所建立之多型性標誌總數增至 310 個(不同酵素處理間的相同基因座不重複計算)，較原先增加 242 個，平均每一酵素可無重複地增測 34.6 個(242/7)。因此，酵素之應用使得本試驗中多型性標誌的偵測效率提高為 4.6 倍 (310/68)，平均一種酵素可使引子之分析效率增加 51.4%。

表 2. 限制酶的使用對引子偵測效果及多型性標誌數目之影響[z]

Table 2. The influence of restriction enzyme digestion of template DNA on the polymorphism detection[z].

Treament	Without polymorphism		Without polymorphism	
	No. of primer	Polymorphic locus	No. of primer	Polymorphic locus
Using undigested template	73	0	24	68
Using 7 enzymes digested and undigested template	16	0	84	310

[z] Based on the results of analysis using 100 primers.

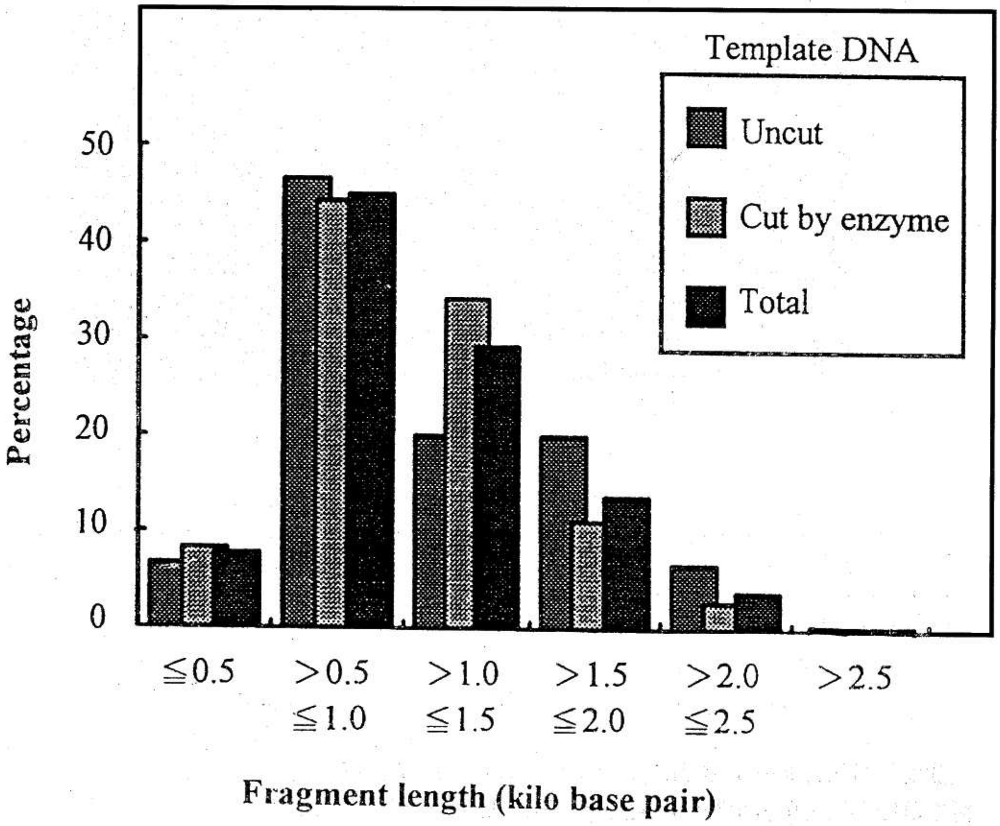

圖 3. 甜瓜 RAPD 條帶之核酸長度分佈情形

Fig. 3. The distribution of fragment length of RAPD bands in *C. melo.*

三、甜瓜 RAPD 標誌之遺傳

在所建立的多型性 RAPD 標誌中，唯有 F_1 植株中亦含有相關條帶者可在 F_2 族群中產生基因型分離現象，因而可供進一步的遺傳分析；本試驗中約 68 %之多型性標誌屬於此類，與依孟德爾原理所預測者(2/3)相近。爲進一步探討甜瓜 RAPD 標誌的遺傳特性，乃逢機選取 32 組多型性標誌進行 F_2 族群分析，再以卡方測驗檢驗其分離模式。F_2 族群分析結果顯示各組標誌皆有分離現象。由於各標誌皆爲親本中之一方及 F_1 具有條帶者(即：無條帶×有條帶→有條帶之 F_1，或有條帶×無條帶→有條帶之 F_1)，故應合乎 3：1(有條帶：無條帶)分離比。表 4 之卡方測驗結果顯示，以 5%爲顯著水準時，共有 23 組標誌與該擬說相符，佔 71.9 %；其餘 9 個有偏離現象，佔 28.1% (9/32)，其中高度偏離者(1% 顯著水準)僅佔 4 個(12.5 %)。換言之，將近 3/4 的甜瓜 RAPD 基因座之遺傳行爲可依孟德爾遺傳定律加以預測，僅少部份(略多於 1/4)有輕度偏離現象，而極度偏離者僅佔 1/8。

表 3. 甜瓜 RAPD-基因座在 F_2 族群中分離情形之適合度測試結果 [z]

Table 3. Goodness of fit to the hypothesized segregation ratio of single RAPD-locus in *C. melo* [z]

Significance level	Numbers of segregating locus		
	Non-significant	Segregation distortion	Total
5%	23(71.9%)	9 (28.1%)	32
1%	28(87.5%)	4 (12.5%)	32

[z] Hypothesized segregation ratio： 3/1

表 4. 不同限制酶對 RAPD 條帶圖譜與多型性現象之影響 [z]

Table 4. The influence of different restriction enzymes on the RAPD banding patterns and polymorphisms [z]

Enzyme	Cutting site	GC %	No. of locus changed
Alu I	(5'AG ↓ CT)	50	94 (23%)
Nde II	(5' ↓ GATC)	50	79 (19 %)
Rsa I	(5'GT ↓ AC)	50	71 (17 %)
Hae III	(5'GG ↓ CC)	100	61 (15 %)
Msp I	(5'C ↓ CGG)	100	43 (11 %)
Cfo I	(5'GCG ↓ C)	100	36 (9 %)
Taq I	(5'T ↓ CGA)	50	24 (6 %)
			Total 408

[z] Based on the results of analysis using 100 primers.

討　　論

一、從限制酶對甜瓜 RAPD 圖譜之影響看 RAPD 標誌之獨立性

從本研究之結果可證明酵素之使用可改變甜瓜的RAPD圖譜形態，就同一酵素而言，此種改變既穩定且合乎遺傳基本原理。此外，本研究結果亦告訴我們不同酵素對條帶的影響方式不盡相同，因此若以不同酵素進行分析，則基因組內之特定地點可能顯示不同訊息。換言之，能否測得更多的遺傳變異顯然與是否使用酵素以及酵素種類有關。至於特定之RAPD基因座所表現之遺傳行爲是否會因酵素

而異？亦即RAPD標誌在遺傳行為上有無獨立性？則爲另一亟須了解之問題。圖4之分析例子可就此問題之答案提供明確線索，由圖4可知，若同一RAPD標誌可被不同酵素處理所偵測到，且親本間的基因型一致，則全圖譜之面貌即使在不同酵素影響下有明顯差異，該基因座在F_2世代中之分離情形自有其獨立之模式。此暗示RAPD基因座爲已然存在者，酵素只會改變圖譜外貌並影響偵測效率，而與各標誌之基本獨立性及遺傳行爲無關。一般學者論及RAPD標誌時，往往對其可靠性有所評論[24,34]，對於上述之特性卻鮮有注意及者；本研究適可彌補這一缺失，從而提醒研究者注意分析方法之改進(包括應用酵素以提高偵測效率)，以致力於多型性之發現；只要分析時具有穩定之操作技術，則對RAPD標誌無須過度懷疑。

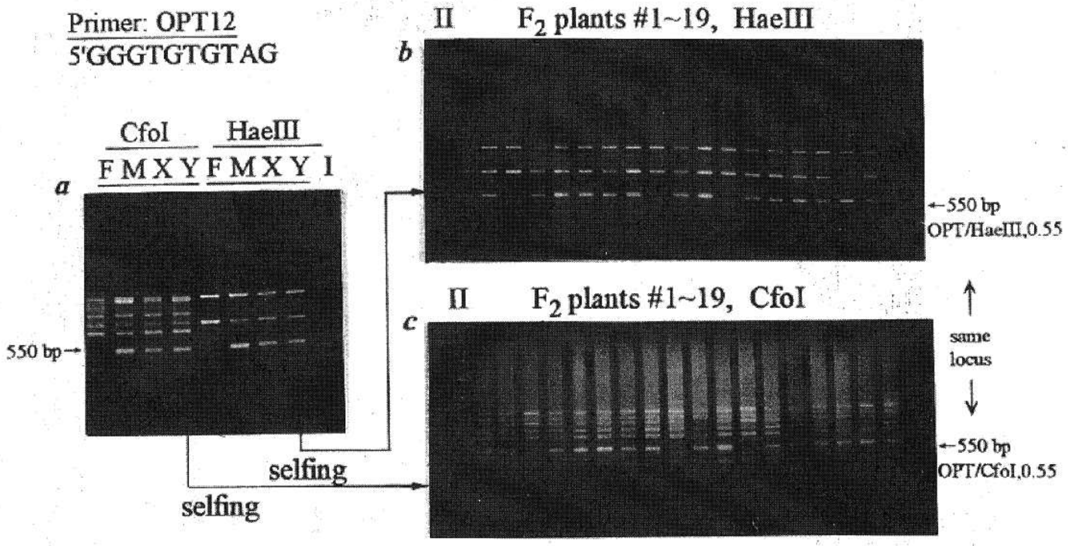

圖4. 由兩種不同限制酶處理但使用相同引子分析所產生的特定條帶在F2族群中表現一致的分離行爲，顯示其所代表的RAPD基因座具有明顯的獨立性

Fig 4. An example showing that different enzyme digestion may cause different banding styles in RAPD analysis, but not the segregation pattern in the F_2 population for a specific locus. Gel *a* was produced by female (F) and male (M) parents, and two F_1 hybrids (X, Y), their DNAs were digested with restriction enzyme *Cfo* I (left) or *Hae* III (right) before PCR. Gels *b* and *c* were produced by two parents (F, M), F_1 hybrid Y, and 19 F_2 progeny derived from Y, their DNAs were digested with *Hae* III (*b*) or *Cfo* I (*c*), respectively. The order of the plants in gels *b* and *c* are all the same. Although the two enzymes gave different total banding styles, the banding styles of the 550-bp bands are the same in Gel *a*. The segregation patterns of the 550-bp bands in both gels *b* and *c* are all the same too. This result implied that the 550-bp bands in both gels *b* and *c* represent the same RAPD-locus. Molecular weight markers I and II：100-bp DNA ladder and 1-kb DNA ladder, respectively.

二、限制酶在 RAPD 分析上之價值及其影響 RAPD 圖譜的可能原理與機制

Williams等學者[32]曾報告PCR反應前先用限制酶切割模板核酸可改變電泳的條帶式樣，但未進一步探討酵素對多型性及其遺傳特性的影響；本試驗在這方面則作了較深入而有系統的探討，證明配合限制酶可偵測到更多的核酸變異，從而提高分析效率，其詳情已如上述。Konieczny和Ausubel[15]以及Jarvis等人[14]曾報告將PCR產物以酵素切割亦可產生新的多型性，稱爲CAPS標誌；但此法須使分析

條帶單純化始有辦法判讀，因此需對增幅部位之核酸序列有較詳細了解，始能設計引子，以致難以廣泛應用。本研究所用方法則不需任何核酸序列資料，而且因每次所需之模板核酸極微量，一次酶解所製備的核酸即可供長期使用，甚爲省力，其餘之步驟皆與一般RAPD分析無異；此外，由於可供選擇之酵素種類甚多而且每次用量極微，若能愼選酵素，對於提高多型性偵測機率以及節省購買新引子之經費將甚有幫助。由此觀之，本法雖僅就原RAPD分析法稍作改進，然而就其所增加之優點而言，顯然有其實用價值。

由本研究結果可知限制酶對RAPD圖譜的影響可分爲條帶之消減與新增兩種方式，吾人推測此兩種改變之機制顯然皆與酵素切位有關。其中以條帶消減現象較易於了解，當酵素切位落於增幅區域，該處酶解後所形成的模板核酸將各僅剩一煉合端點，不利於增幅反應，該電泳條帶便會因而消失。以常理推之，越長之核酸段落帶有相關酵素切位之機率應越大，因此其條帶消失的機率亦越高，圖3的結果適可作爲此一推論之佐證。不使用酵素時，僅當煉合點發生變異始能引致條帶的差異，至於兩煉合點間的變異性則無法偵測出來，酵素的使用打破了此一限制，從而增加了分析的靈敏性。從另一角度觀之，此種藉由酶解而顯示的多型性現象，與RFLP的分析原理實有相似之處[5]，似可看作RFLP現象的另一種呈現方式。至於新增之條帶除了係受酵素切位影響而外，吾人推測此現象亦應與染色體上的重複序列(repetitive sequences)有關。當兩個對應的煉合位置相距較遠而無法形成增幅片段，若其中一部份爲重複序列且帶有酵素切位，則酶解後其重複序列之間可於PCR初期互相煉合，再經過延長反應形成新的模板，因而縮短兩個煉合點之距離，使增幅反應得以完成而產生新條帶。已知染色體上存有重複序列爲高等生物之普遍現象[6]，但產生新條帶之機制是否如上述所推測一般，則尙待求證。

三、從 RAPD 標誌探討甜瓜的遺傳特質

1. 甜瓜的遺傳歧異性

遺傳標誌所顯示的多型性現象係來自基因組內的變異，各種多型性的顯現機會固須以生物本身的遺傳變異程度爲基礎，然而在相當程度內亦受限於偵測方法。偵測方法的優劣取則決於其穩定性和靈敏度，由上述可知RAPD標誌具有可靠的穩定性，而限制酶之使用可顯著提高RAPD分析之靈敏度，增加多型性的偵測機率。然而甜瓜本身的遺傳歧異性程度更是各種遺傳研究的基礎，欲探討甜瓜的遺傳歧異性程度，可從不同物種之比較得知端倪。已知以未酶解之模板核酸進行RAPD分析時，平均僅5%之逢機引子可測得大豆自交品系間之多型性[18]，而在極具遺傳變異性的柑橘作物中，每一逢機引子可偵測到品種差異的機率則高達50%以上[7]。在相同方法下，本研究結果顯示每一逢機引子測得甜瓜品種差異之機率爲24% (表2)，此數值介於上述兩作物之間。甜瓜與大豆分屬常異交與自交作物，柑桔則具有極高度遺傳歧異性[7]，上述結果顯示甜瓜之遺傳歧異性介於大豆與柑桔之間，應屬合理。在同爲瓜類之作物中，若以甜瓜與西瓜及胡瓜相比較，則以甜瓜的RAPD多型性最豐富，胡瓜次之，西瓜最貧乏(未發表之數據)，顯示甜瓜的遺傳歧異性比其他兩種爲高，此現象顯然與甜瓜具有較多樣的演化過程有關[1]。

2. 甜瓜多型性的遺傳分離行爲

有關RAPD標誌在相關族群中的分離模式，不僅是遺傳分析的重要依據，也可用於了解一般遺傳行爲。表4顯示部分之甜瓜RAPD標誌在F_2族群中之分離情形有偏離孟德爾預測値之現象。這種偏離行爲顯然是生物界的普遍現象，在植物中曾有多位學者探討過，其種類至少包括番茄[12, 23]、萵苣[17]、甜椒[23]、甜菜[22]、馬鈴薯[10]、甘藍[16]、水稻[19]、玉米[12]、和柑桔[7, 9]等。已知會發生偏離者包括同功酶、RFLP、RAPD 等[7, 9, 17, 30]；此現象可發生於屬間、種間以及種內之雜交[7]，雖然原因仍未十分清楚，但部份學者認爲係自然界或人爲環境所施於之選種壓力(selection pressure)所造成[7]。前人研究亦發現偏離現象與物種特性及雜交組合方式有關，越是遠緣雜交之後代偏離機率越高，其在水稻之種內雜交僅爲12%[19]，在柑桔種間或屬間雜交中可達26.5%或40%[7, 9]，而番茄種間雜交更可高達68%[21]。

本研究之甜瓜材料屬於種內雜交族群，依上述不同作物之情形而言，其偏離程度應屬正常。經以LINKAGE-1 電腦軟體[27]進行連鎖分析，所建立之連鎖圖顯示甜瓜的偏離標誌似有聚集於某些部位之現象(未發表)，此暗示其偏離現象極可能和染色體的物理結構有關。

3. 甜瓜 RAPD 標誌與基因組核酸序列之關係

基於上述，限制酶既然可使遺傳變異的偵測範圍擴大到整個增幅區域，是否亦有助於瞭解增幅區的核酸序列特徵？亦爲一有趣之問題。由於各酵素之切位序列爲已知者，因此此問題可由各種切位之存在情形加以考察。由表 4 可推知不同酵素切位在所有增幅區域中之發生機率顯然不一，以 *Alu* I 最高，其餘依次爲 *Nde* II 、*Rsa* I 、*Hae* III 、*Msp* I 、*Cfo* I 和 *Taq* I 。各種酵素切位序列的 GC 所佔比率爲 50%或 100%（表 4），理論上越是富含 GC 序列之區域將越容易形成高 GC 比之酵素切位，反之亦然。表 4 之結果顯示在甜瓜之增幅區域內高 GC 比之酵素切位明顯少於其他者，此是否意謂著大部份 RAPD 標誌並非位於富含 GC 序列之區域？或者在甜瓜基因組中較少高 GC 序列之區域？則有待進一步探討。

結　論

RAPD 分析爲一簡便、經濟、安全之技術，極適合一般遺傳與育種研究室之使用。本研究結果則顯示配合限制酶的使用可提高甜瓜的RAPD分析效率，且可證明RAPD標誌之獨立性與穩定性，進而有助於瞭解其基本機制，使我們對 RAPD 標誌有進一步瞭解和掌握。

誌　謝

本研究承行政院農業委員會經費補助(計畫編號：80 農建-7.1-糧-121-17、81 農建-12.1-糧-67-14、82 科技-1.1-糧-56-15)，謹此致謝。

引用文獻

1. 王　堅。1982。甜瓜，589-600 頁。中國蔬菜栽培學(中國農業科學院蔬菜研究所主編)。農業出版社出版。
2. 林學正、蕭吉雄、張有明、林泰椿。1985。台灣省農業試驗所特刊第十八號-瓜類種源圖說。台灣省農業試驗所編印。
3. 蕭吉雄、楊偉正。1990。瓜類育種，203-221 頁。園藝作物育種講習會專刊。台灣省農業試驗所編印。
4. Baudracco-Arnas, S. 1995. A simple and inexpensive method for DNA extraction from *Cucumis melo* L. Cucurbit Genetics Cooperative Report. 18： 50-51.
5. Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick, and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32：314-331.
6. Bruford, M.W., O. Hanotte, J.Y. Brookfield, and T. Bruke. 1992. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. pp. 226-269. In： Hoelzel A.R. (ed.). Molecular genetic analysis of populations, a practical approach. Oxford Univ. Press, Oxford, England. 315 pp.
7. Cai, Q., C.L. Guy, and G.A. Moore. 1994. Extention of the linkage map in *Citrus* using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and RFLP mapping of cold-acclimation-responsive loci. Theor. Appl. Genet. 89： 606-614.
8. Dellaporta, S.L., J. Wood, and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA minipreparation：Version II. Pl. Mol. Biol. Rep. 1(4)： 19-21.
9. Durham, R.E., P.C. Liou, F.G. Gmitter Jr, and G.A. Moore. 1992. Linkage of restriction fragment length polymorphisms and isozymes in *Citrus.* Theor. Appl. Genet. 84： 39-48.
10. Gebhardt, C., E. Ritter, T. Debener, V. Schachtschabel, B. Wakemeier, H. Uhrig, and F. Salamini. 1989. RFLP analysis and linkage mapping in *Solanum tuberosum.* Theor. Appl. Genet. 78： 65-75.
11. Gmitter, F.G.Jr, S.Y. Xiao, S. Huang, X.L. Hu, S.M. Garnsey, and Z. Deng. 1996. A localized linkage map of the citrus tristeza virus resistance gene region. Theor. Appl. Genet. 92： 688-695.
12. Helentjaris, T., M. Slomcum, S. Wright, A. Schaefer, and J. Nienhuis. 1986. Construction of genetic linkage maps in maize and tomato using restriction fragment length polymorphisms. Theor. Appl. Genet. 72：761-769.

13. Hu, J., and C.F. Quiros. 1991. Identification of broccoli and cauliflower cultivars with RAPD markers. Plant Cell Reports 10 : 505-511.

14. Jarvis, P., C. Lister, V. Szabo, and C. Dean. 1994. Integration of CAPS markers into the RFLP map generated using recombinant inbred lines of *Arabidopsis thaliana.* Plant Mol. Biol. 24 : 685-687.

15. Konieczny, A., and F.M. Ausubel. 1993. A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. Plant Journal 4(2) : 403-410.

16. Landry, B.S., N. Hubert, R. Crete, M.S. Chang, and T. Etoh. 1992. A genetic map for *Brassica oleracea* based on RFLP markers detected with expressed DNA sequences and mapping of resistance genes of race 2 of *Plasmodiophora brassicae* (Woronin). Genome 35 : 409-420.

17. Landry, B.S., R.V. Kesseli, B. Farrara, and R.W. Michelmore. 1987. A genetic map of lettuce *(Lactuca sativa L.)* with restriction fragment length polymorphism, isozyme, disease resistance and morphorlogical markers. Genetics 16 : 331-337.

18. Lin, J.J., J. Kuo, J. Ma, J.A. Saunders, H.S. Beard, M.H. MacDonald, W. Kenworthy, G.N. Ude, and B.F. Matthews. 1996. Identification of molecular markers in soybean comparing RFLP, RAPD, and AFLP DNA mapping techniques. Plant Molecular Reporter 14(2) : 156-169.

19. McCouch, S.R., G. Kochert, Z.H.Yu, Z.Y. Wang, G.S. Khush, W.R. Coffman, and S.D. Tanksley. 1988. Molecular mapping of rice chromosomes. Theor. Appl. Genet. 76 : 815-829.

20. Neuhausen, S.L. 1992. Evaluation of restriction fragment length polymorphism in *Cucumis melo.* Theor. Appl. Genet. 83 : 379-384.

21. Paterson, A.H., E.S. Lander, J.D. Hewitt, S. Peterson, S.E. Lincoln, and S.D. Tanksley. 1988. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphism. Nature 335 (20) : 721-726.

22. Pillen, K., G. Steinrucken, G. Wricke, R.G. Herrmann, and C. Jung. 1992. A linkage map of sugar beet *(Beta vulgaris L.)* Theor. Appl. Genet. 84 : 129-135.

23. Prince, J., E. Pochard, and S.D. Tanksley. 1993. Contruction of a molecular linkage map of pepper and a comparison of synteny with tomato. Genome 36 : 404-417.

24. Rasmussen, R., and G. Reed. 1992. Optimizing rapid cycle DNA amplification reactions. The Rapid Cyclist 1(1) : 1.

25. Skroch, P.W., and J. Niehuis. 1992. A RAPD protocol for the air thermo-cycler. The Rapid Cyclist 1(1) : 9-10.

26. Stanley, D. 1993. Mapping blueberry genes. Agri. Res. 1993 (9) : 20-21.

27. Suiter,K., J. Wendel, and J. Case. 1983. LINKAGE-1 : a PASCAL computer program for the detection and analysis of genetic linkage. J. Hered. 74 : 203-204.

28. Talemori, N., K. Shinoda, and N. Kadotani. 1994. RAPD markers for confirmation of somatic hybrids in the dihaploid breeding of potato*(Solanum tuberosum L.)*. Plant Cell Rep. 13 : 367-371.

29. Tingey, S.V., and J.P. del Tufo. 1993. Genetic analtsis with random amplified polymorphic DNA markers. Plant Physiol. 101 : 349-352.

30. Torres, A.M., N.F. Weeden, and A. Martin. 1993. Linkage among isozyme, RFLP and RAPD markers in *Vicia faba.* Theor. Appl. Genet. 85 : 937-945.

31. Williams, J.G.K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18(22) : 6531-6535.

32. Williams, J. G. K., M.K. Hanafey, J. A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1993. Genetic analysis using RAPD markers. Methods in Enzymology 218 : 704-740.

33. Witter, C. T. 1992. Buffer and reaction components for rapid cycling. The Rapid Cyclist 1(1) : 6.

34. Wittwer, C. T., and D.J. Garling. 1991. Rapid cycle DNA amplification : time and temperaure optimization. BioTechniques 10 (1) : 76-83.

35. Wolff, D. W., and J. Zhou. 1996. Potential utility of RAPD markers linked to *Fom* 2 gene in melon (*Cucumis melo L.*). Cucurbit Genetics Cooperative Report 19 : 61-62.

A Study of Random Amplified Polymorphic DNA and Its Genetic Characteristics in *Cucumis melo* [1]

Pan-Chi Liou, You-Ming Chang, Wha-Shin Hsu,
Ying-Huey Cheng, Hwei-Ru Chang and Chi-Hsiung Hsiao [2]

Summary

In this paper we reported some genetic characteristics in *Cucumis melo* based on the analysis of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers using a 3-generation population. It has been found in this study that the variation of RAPD banding patterns will occur if restriction enzyme was used for template DNA digestion before PCR. By the use of enzyme, the band number can be either reduced or increased. Our results showed that those phenomena can be stably repeated. This method can significantly enhance the efficiency of RAPD analysis. Some hypotheses were proposed to interpret the mechanism causing these phenomena and for the further understanding of RAPD markers. Our investigation has also confirmed the stability and independent behavior of RAPD-loci. Some genetic characteristics of *C. melo* have also been discussed based on the RAPD analysis.

Key words：*Cucumis melo* L., Polymerase chain reaction (PCR), Random amplified polymorphic DNA (RAPD), Genetic analysis.

1. Contribution No. 1960 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Respecrively, Horticulturist, Assistant Horticulturist, Assistant, Assistant Horticulturist, Project Assistant, and Senior Horticulturist and Department Head, Department of Horticulture, TARI, wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）47(4)：388～407（1998）

荔枝園營養調查與營養診斷研究[1]

黃維廷[2]　黃裕銘[3]　向為民[2]　張明暉[2]
林木連[2]　王鐘和[2]　吳婉麗[2]

摘要：為探討與建立本省荔枝園營養診斷方法，以供肥培改進之依據與參考，本研究應用葉片與土壤分析，針對台中縣、南投縣市及彰化縣約30個荔枝園，於1997年起進行營養與肥培管理調查。品種主為黑葉，次為糯米滋。產量調查及葉片分析結果顯示，產量與葉片氮含量呈二次式相關且葉片氮含量大多高於二次式中產量最高點的葉片氮含量，尤其花期(包括始花，2-4月)葉氮高於1.90%以上時收量減低，由迴歸程式求得最高產量90%之花期葉片氮素含量範圍為1.50-1.90%。至於葉片磷、鎂、鈣及硼含量與收量之迴歸分析則呈正相關，其相關r值(n=52)分別為0.498**、0.561**、0.444**、0.543**，達極顯著(1%)水準。收量60公斤/株以上之植株，其花期(包括始花，2-4月)至謝花著果(5月)之葉片養分狀況，通常磷、鎂、鈣及硼分別為0.09%，0.30%，0.90%及25mgkg^{-1}以上。分析顯示供試果園土壤約85%以上屬極強酸性(pH<5.00)而土壤交換性鈣鎂含量甚低，分別低於500mgkg^{-1}及50mgkg^{-1}。檢討黑葉荔枝葉片之養分季節性變化，花期至謝花著果期間甚平穩，且由於花期之葉片氮、磷與收量之迴歸相關值較謝花著果與著果後一個月者(6月初)大，故選擇花期(2-4月)花穗下段成熟葉片為葉片營養診斷之採樣適期與部位。以葉片要素對收量之影響為基礎，並參酌國內外之文獻，黑葉荔枝葉片養分適宜濃度範圍定為：N：1.50-1.90%，P：0.12-0.27%，K：0.70-1.00%，Ca：0.60-1.00%，Mg：0.30-0.50%，Fe：50-100 mgkg^{-1}，Mn：100-250 mgkg^{-1}，Cu：10-25 mgkg^{-1}，Zn：15-30 mgkg^{-1}，B：25- 60 mgkg^{-1}。

關鍵詞：荔枝、花期、採樣方法、葉片養分標準、營養診斷。

前　言

荔枝(*Litchi chinensis Sonn.*)為原產中國之亞熱帶經濟果樹，台灣栽植面積達 12,339 公頃，產量97,940 噸[1]，具特殊風味，因產期短與保鮮問題，國外不易進口競爭，為較不受加入WTO組織衝擊之重點產業之一。荔枝對各種土壤的適應性甚廣，無論沖積砂土，壤土，重粘土，有機質土，石灰質土，甚至石礫地均可種植[21]。荔枝為亞熱帶常綠果樹，春夏之際生育期間，須有高溫及適當水分供應，以促使果實及新梢之生育，並培養次年之結果枝，但秋冬之花芽分化期，則需冷涼乾燥之氣候，以抑制新梢生長及刺激花芽分化，故其於本省之分佈為新竹以南至高屏[2]。迴歸線通過之區域，南、北緯20度至25度間之澳州、美國、南非，印度、泰國等皆引進栽種。

---

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第1961號。

2. 本所農化系助理、副研究員、助理、研究員兼系主任、副研究員、計畫助理。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

3. 中興大學土壤環境科學系副教授。臺灣省　臺中市。

本省有關荔枝營養的研究甚少，鄧氏[9]探討荔枝葉片養分季節性變化，指出採果後第二次梢葉片要素含量範圍，N 爲 2.40-2.52%，P 爲 0.11-0.14%，K 爲 0.66-1.07%，Ca 爲 0.33-0.70%，Mg 爲 0.22-0.30%；羅與林[10]從事荔枝三要素需肥量試驗，認爲 5-9 年生黑葉荔枝N之施肥推薦量爲 250-500 公克/年/株，P_2O_5 爲 250-500 公克/年/株，K_2O 施肥推薦量亦爲 250-500 克/年/株；張等[6]於農試所研究荔枝營養之季節性變化與肥培管理，初步的結果建議，花芽抽出期(抽穗期約 12 月至次年元月)抽花枝或結果枝葉片含量的適宜範圍，N爲 1.5-1.9%，P爲 0.12-0.27%，K爲 0.7-1.0%，則植株的收量與糖度品質俱佳。5 月果實肥大期之結果枝葉片 P 含量者低於 0.11%，則著果率及產量均低，此時期的葉片鉀含量如低於 0.45%則影響果實生長且產量銳減。

國外營養診斷研究以南非及澳洲爲主，南非 Koen 與 Smart[18]認爲果實發育迅速肥大始於著果後 8 週，即相當於採收前 8 週，故訂其採樣時期爲著果後 6-8 週，又其 N、P、K 適量範圍(1.48-1.52%，0.15-0.18%，0.95-1.05%)，似與 Cull[13](1.30-1.40%，0.08-0.10%，1.0%)及澳州 Anon[11](1.30-1.40%，0.17-0.20%，0.80-1.20%)的結果具有範圍太狹窄的缺點因而減低其適用性，僅可作養分充足臨界值(sufficient critical value)之參考，至於鈣鎂養分之各參考值則差異甚大。至於澳洲 Menzel[23]等建議的荔枝葉片營養診斷採樣技術(時期，部位)及 N、P、K 的適量範圍，則與張等[6]的結論頗相似。本試驗擬調查台灣中部不同產區(台中縣、南投縣市、彰化縣)之黑葉與糯米糍荔枝園營養狀況，包括土壤肥力、葉片養分、收量與品質，並以統計變方分析及迴歸統計等方式評估與調整現行營養診斷標準(diagnostic criteria)及採樣技術，以供肥培改進之依據與參考。

材料與方法

一、荔枝園營養狀況、肥培管理與收量品質調查

㈠實施地點：臺中縣太平鄉、神岡鄉、南投縣集集鎮、南投市、草屯鎮、彰化芬園鄉。

㈡品種：黑葉 (*Litchi chinensis* Sonn,cv.Haak Yip)、糯米糍 (*Litchi chinensis* Sonn,cv.No Mai Tsz)。

㈢調查內容與分析項目。

1. 果園土壤調查

以土鑽鑽洞法進行全園土壤調查，並選具代表點開挖剖面進行土壤描述並取樣分析。調查及分析項目包括果園地理位置、高度、地形、地勢、坡度、土壤描述、質地、石礫含量、pH、有機質含量、交換性陽離子。

2. 土壤採樣方法與肥力分析項目

每果園於樹勢平均之處，除採樹冠下緣處外，於樹冠與樹冠之間加採 1 點，每處於兩樹之間計採 3 點，各分上下表底土兩層(0～20cm，20～40cm)，每果園計採 3 處 9 點，以克服施肥位置輪替與施肥造成土壤有效養分分佈不均之變異，分析項目包括土壤 pH，土壤有機質，Bray No.1 磷，醋酸銨交換性鉀、鈣及鎂，石礫含量，土層深度等。

3. 土壤分析方法[8]

①有機質測定：使用重鉻酸鉀氧化法。

② pH 測定：以玻璃電極法測定，土：水=1：1(w/v)。

③白雷氏第一法(Bray No.I method)萃取性磷

以 0.025N HCl-0.03N NH_4F，pH3.5 之抽出液搖動萃取，鉬藍法以光電比色計(spectrophotometer)測定之。

④土壤交換性鉀鈣鎂測定

以中性 pH7 之 1N NH_4OAC 振盪離心法萃取 4 次，再將抽出液以感應耦合電漿原子發射光譜儀(ICP)測定之。

4. 荔枝葉片採樣方法與樣品製備

⑴採葉時期：①花期(包括始花之花芽萌動及花穗抽出)(2-4 月)②謝花著果期(4-5 月)③著果後一個月(硬核及果肉發育)

⑵採樣部位與方法：花芽萌動及花穗抽出期採花穗下段之剛成熟葉，著果期及採收前採果穗之下段成熟葉，於對稱位置採取兩枚（包含葉柄），全樹東西南北方位均採，每株計約 32 葉。

⑶樣品調製：葉片樣品先以自來水沖洗其上之塵垢與藥劑殘留後，需再經去離子水或蒸餾水滌洗一次，以紗布略擦乾移入烘箱殺青，溫度控制於 70～75℃，約 2～3 日後即可磨粉，編號裝瓶。（注意清洗過程中不可將葉片浸泡水中，以免流失營養元素）

5. 植體分析與測定[5]

⑴氮之定量…採用 Kjeldahl 法

⑵ P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu 及 Zn……以二酸(HNO_3，$HClO_4$)分解後，分解液以感應耦合電漿原子發散光譜儀(ICP)測定。(P 以鉬黃法光電比色計測定)。

⑶硼之定量……薑黃素呈色法，以光電比色計定量。

6. 收量調查，測定果實糖度及果粒重量。

結果與討論

一、調查園的地理位置(座標)及土壤剖面調查

此次所調查中部地區荔枝園約 30 戶，主要分佈於北緯 23 度至 24 度之範圍附近，其詳細位置(座標)及所屬土系與土壤理化性質列於表 1，調查園的地理分佈參見圖 1。所調查之黑葉荔枝果園的土壤母質，包括砂頁岩非石灰性新沖積土，砂頁岩崩積土，紅壤，砂頁岩非石灰性老沖積土，砂頁岩粘板岩非石灰性混合沖積土，及黃壤等。糯米糍果園則集中於南投縣集集鎮坡地，母質主爲砂頁岩崩積土；太平鄉坡地果園土層淺，約 40～60 公分，而平地果園土層深至 120 公分，神岡鄉主爲平地旱田或大肚山末端清泉岡平坦丘陵地，土層均深約 120 公分，芬園平地果園位處烏溪沖積河床地，土層淺(約 20～40 公分)，坡地果園的土層較深(約 80 公分)，也有土層淺於 40 公分達石礫層者。南投市之果園與芬園坡地果園同屬八卦山系，土層亦不深(約 40 公分)，草屯除傅木傳之果園在 20-30 公分以下爲石礫層外，其餘果園土層可深達 110～150 公分。

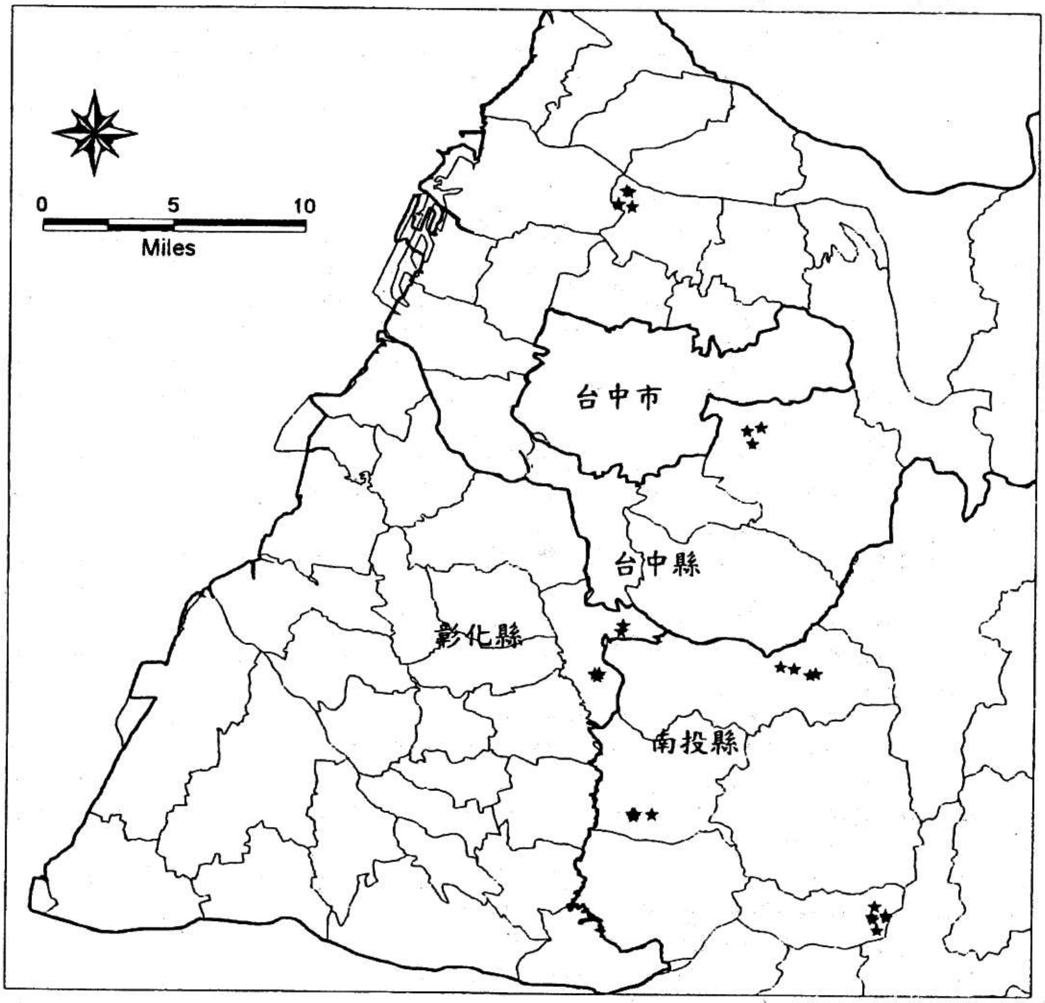

圖 1. 荔枝調查園之地理位置

Fig.1. Geographical distribution of surveyed lychee orchards.

二、荔枝調查園土壤肥力狀況及土壤測定營養診斷之限制

供試之荔枝園之土壤肥力(表 1)，一般而言，無論坡地或平地概屬強酸性土壤，0～40 公分的土壤鈣、鎂含量普遍很低，土壤有效磷、鉀之肥力尚佳(表 2)。由於磷在土壤剖面中之移動性差，故表土磷含量較高，且隨土層深度而劇減，有效性鉀亦多以表土最高，但隨剖面深度下降的幅度較磷爲小。由土壤有效性磷及鉀之剖面分佈狀況，顯示爲果園習慣肥料淺施的結果。

表 1. 調查園地理位置及土壤肥力與剖面理化分析

Table 1. Geographical distribution and soil fertility of lychee orchards surveyed.

Site	Farmer	Mercator cootdinat NX, E	Altitude	Soil series	Texture	Depth (cm)	pH	O. M. %	EC dSm^{-1}	Brays' P	—Exch. cations— K	Ca	Mg
										———	mgkg^{-1}	———	
Taiping 太平	T_1	222850x	160	細道	CL	0-30	5.4	1.08	0.02	26	62	760	171
		2671100		邦系		30-60	5.6	0.53	0.01	15	44	590	137
				Htp7									
	T_2	221870x	101	吳厝系	SiL	0-30	4.5	1.65	0.03	29	113	500	130
		2670850		Twt4		30-60	5.2	0.62	0.01	0.2	83	840	135
						60-90	5.1	0.64	0.02	0.2	67	1,000	193
						90-120	5.2	0.55	0.01	0.2	58	980	217
	T_3	222250x	102	聚興系	VFSL	0-20	4.9	2.91	0.03	45	63	870	137
		2669950		Tci3		20-40	5.4	0.50	0.02	0.5	86	2,510	644
						40-70	4.8	1.05	0.02	0.6	141	1,390	343
Shekang 神岡	S_1	213100x	166	陳厝寮	SiCL	0-20	4.0	2.12	0.03	48	103	170	37
		2683000		Cce7		20-40	3.7	1.71	0.04	12	106	130	17
						40-80	4.7	1.01	0.04	0.3	260	420	49
						80-120	4.6	0.95	0.05	0.3	253	530	53
	S_2	213830x	183	陳厝寮	SiCL	0-20	4.2	1.88	0.03	219	95	270	60
		2686150		Cce7		20-40	3.8	1.39	0.05	10	127	120	30
						40-80	3.9	1.00	0.05	0.3	121	150	31
						80-120	4.5	0.94	0.04	0.4	129	390	74
	S_3	212900x	186	陳厝寮	SiCL	0-20	3.9	1.17	0.03	108	59	130	18
		2686320		Cce7		20-40	3.9	1.20	0.05	0.7	80	130	18
						40-80	4.0	0.94	0.04	0.2	85	140	24
						80-120	4.4	0.88	0.03	0.4	75	320	37
	S_4	213740x	180	陳厝寮	SiCL	0-25	4.5	1.28	0.02	125	49	290	36
		2687230		Cce7		25-60	3.8	1.00	0.05	0.2	69	120	17
						60-90	3.8	0.93	0.06	0.2	63	180	31
						90-120	4.1	0.76	0.06	0.3	101	300	56
	S_5	213600x	180	陳厝寮	SCL	0-30	5.0	1.23	0.05	22	41	550	37
		2687150		Cce6		30-60	3.8	0.99	0.07	0.2	40	180	16
						60-90	4.2	0.65	0.05	0.2	52	330	30
						90-120	4.7	0.80	0.04	0.2	44	540	72
Fenyuan 芬園	F_1	213370x	58	社腳系	L	0-20	5.1	1.50	0.03	17	120	550	115
		2656800		Tco5		20-40	5.7	0.98	0.03	7	50	770	108
	F_2	213500x	61	社腳系	L	0-20	4.9	1.79	0.03	68	135	670	78
		2657200		Tco5		20-40	5.1	0.69	0.02	22	75	450	55
	F_3	211770x	110	大城系	SCL	0-20	3.7	1.86	0.05	32	85	62	16
		2653650		Tc6		20-50	3.9	0.74	0.05	N.D.[z]	65	33	7
						50-80	4.0	0.51	0.05	N.D.	49	30	7
	F_4	211600x	125	大城系	SCL	0-20	4.1	1.75	0.04	5	81	114	32
		2653830		Tc6		20-40	4.0	1.50	0.05	2	92	85	28
	F_5	211900x	80	彰化系	L	0-20	4.1	1.43	0.04	34	56	100	14
		2653850		Cc5		20-40	4.3	0.76	0.04	10	42	22	6

[z] non detectable.

（續表 1）

Site	Farmer	Mercator cootdinat NX, E	Altitude	Soil series	Texture	Depth (cm)	pH	O. M. %	EC dSm^{-1}	Brays' P	—Exch.	cations—	
											K	Ca	Mg
										——	$mgkg^{-1}$	——	
Nantou	N_1	214250x	300	彰化系	L	0-20	4.2	2.22	0.07	178	220	300	18
南投		2644100		Cc5		20-40	4.1	1.44	0.10	24	205	170	8
	N_2	214330x	290	彰化系	L	0-20	4.1	2.42	0.05	76	133	290	30
		2643950		Cc5		20-40	4.3	0.76	0.04	10	42	20	6
	N_3	214400x	280	彰化系	L	0-20	3.8	2.26	0.08	26	156	230	21
		2644100		Cc5		20-40	3.8	1.17	0.09	3	120	80	7
	N_4	215600x	183	盧厝系	L	0-20	3.6	2.36	0.07	32	110	150	15
		2644050		CLv5		20-40	3.8	1.32	0.06	12	87	110	8
Tsaotou	TS_1	224250x	146	古亭笨	L	0-20	4.6	1.30	0.03	74	22	390	64
草屯		2654430		系 Kip5		20-40	4.1	1.14	0.08	12	27	370	75
						40-60	4.9	0.44	0.02	11	14	290	63
	TS_2	225180x	196	車光系	VfSL	0-20	4.3	0.58	0.03	26	28	260	28
		2654300		Tuk3		20-50	4.7	0.64	0.02	3.7	25	170	31
						50-59	4.6	0.58	0.02	1.2	21	160	31
						100-130	4.9	0.66	0.02	0.0	44	260	27
						130-150	5.0	0.42	0.02	0.7	52	260	46
	TS_3	226250x2	205	崩積石	SL	0-20	5.9	2.64	0.04	101	157	1,070	105
		653875		質土 R2									
						下層爲岩石							
	TS_4	226650x	205	延系	VfSL	0-20	4.7	0.85	0.02	99	114	150	20
		2653950		Ysi3		20-40	4.4	0.52	0.02	16	53	60	4
						40-60	4.4	0.70	0.03	11	78	140	7
						60-100	4.4	0.63	0.04	6	79	150	18
						110-150	4.5	0.51	0.03	6	20	260	19
Chichi	C_1	231650x	525	龜溝系	CL	0-20	5.0	2.12	0.03	46	151	1,460	193
集集		2637150		Kuk5	L	20-40	5.2	1.12	0.03	18	144	1,930	390
	C_2	231700x	475	龜溝系	L	0-20	5.3	2.43	0.03	47	59	790	147
		2637000		Kuk5		20-40	6.1	1.17	0.05	23	54	1,510	165
	C_3	230780x	376	龜溝系	L	0-20	4.9	2.03	0.05	315	411	580	73
		2636880		Kuk5		20-40	4.5	1.52	0.06	160	308	400	64
	C_4	231080x	400	龜溝系	CL	0-20	4.7	2.51	0.02	154	145	540	67
		2636130		Kuk5		20-40	4.3	1.83	0.03	90	117	270	33
	C_5	230720x	400	龜溝系	L	0-20	4.6	2.74	0.06	193	421	700	65
		2637050		Kuk5		下層爲岩石							
	C_6	222480x	387	龜溝系	L	0-20	4.0	1.38	0.06	22	106	350	149
		2639730		Kuk5		20-40	4.1	1.08	0.05	17	97	280	94
	C_7	222400x	364	龜溝系	L	0-20	4.2	1.00	0.35	19	136	200	41
		2639080		Kuk5		20-40	4.6	0.54	0.33	5	101	430	154
	C_8	230900x	517	龜溝系	CL	0-20	5.8	2.32	0.05	63	183	1,220	124
		2637750		Kuk7		20-40	5.1	1.58	0.03	14	127	680	111

表 2. 荔枝園土壤化學性質簡表

Table 2. Brief statistics about soil fertility in lychee orchards.

Items	pH < 5.0	O. M. < 2 %	Bray's P ≥25mgkg-1	Exch. K ≥80mgkg-1	Exch. Ca < 500mgkg-1	Exch. Mg < 80mgkg-1
Percentage of surveyed orchards(%)	85	80	60	75	74	70

表 3 顯示果園土壤肥力與葉片要素含量的關係，其中的土壤有機質、有效磷及鉀含量均與樹體葉片氮、磷及鉀含量無顯著相關，而土壤交換性鈣、鎂含量則與葉片鈣、鎂呈顯著相關。由於上述土壤與葉片養分之相關不佳，且果樹爲多年生作物，樹體係所有要素養分之貯庫(reservior)，爲果園管理，氣候，品種與樹齡等之綜合表現，致土壤測定之營養診斷頗受限制，又果園土壤施肥不均且果樹的根域甚廣與深，致果園土壤變異大，取得肥力代表性土樣不易，爲尋求可資代表果園肥力之土壤採樣方法，張等[3,7]建議按 0～10，10～20，20～30，30～50，50～75 公分逐層取樣，再由 0～75 公分之分析值加權平均以代表其肥力，足見困難一斑，故果園營養診斷應以植體分析爲主，但現場土壤物理性診斷，如土層厚度及物理性障礙(如硬磐)確有其意義。土壤測定(soil test)項目中變異性低之性質如 pH、質地及有機質含量等，能提供養分游離或固定之化合態(chemical form)或有效性(availability)之訊息，仍不失爲肥培推薦之指引。參酌澳州 Menzel 與 Simpson[21]報告及考慮適當的鈣鎂比或鉀鎂比，檢討本試驗果園肥力調查的結果，初擬荔枝園土壤肥力的改善參考如表 4 所示。

表 3. 荔枝園土壤鈣鎂肥力與葉片鈣鎂養分之相關係數 r 值

Table 3. The correlation coefficients (r) of soil nutrients (Ca,Mg) related to corresponding leaf nutrients surveyed in lychee orchards.

Sampling / nutrient	Anthesis (Feb.-Apr.)	Fruit set (May)	One month after fruit set (Jun.)
soil Ca and leaf Ca	0.447	0.507*	0.707**
soil Mg and leaf Mg	0.529*	0.384	0.425

* indicates significant difference at 5 % level.

** indicates significant difference at 1 % level.

表 4. 荔枝果園土壤肥力分析適宜值暫訂參考

Table 4. Tentative soil nutrient standards for lychee orchards.

Items	pH	O. M. %	Bray's P mgkg-1	Exch. K mgkg-1	Exch. Ca mgkg-1	Exch. Mg mgkg-1
	5.5-7.0	2.0	2525	80-150	1,200	200

三、葉片分析應用於營養診斷之探討

㈠ 調查園荔枝葉片養分之營養狀態(nutritient status)

表 5 爲花期至果熟前的 3 個採樣期兩品種荔枝之葉片各種養分濃度之分佈範圍，平均與變異分散情形，各種養分中以錳的變異係數(C.V%)值 70-90 最大，其次爲硼、鈣、銅及鋅等約 40-50(糯米糍的銅及黑葉著果後一個月銅的 C.V.%亦甚大達 60-75)，鎂、鉀及鐵則約 20-40，至

於氮與磷之 C.V.值最小，其分散程度最低。表 6 爲調查園 65%植株葉片之養分濃度常現之範圍，也約略相當於 Mean±S.E.，與採樣時期、部位相近或相同之澳州(品種爲 Taiso，黑葉，Wai-chee)葉片養分常現範圍及標準對照比較，顯示黑葉氮素範圍高於澳洲者，而糯米糍則與其相近。兩品種磷及鉀含量常現範圍均較澳州偏低，除品種的出入及地區環境差異外，原因可能爲台灣農民氮素施用量高的習慣及果園土壤概屬強酸性反應而影響植株對土壤或肥料中磷及鉀養分的吸收與反應。黑葉之鈣與鎂養分範圍略寬於澳洲者，而糯米薑之鈣、鎂範圍則偏低。兩品種硼、銅、鋅養分範圍也低於澳洲者，兩品種錳的上限範圍高於澳州 3 倍以上，而鐵的範圍則相當。營養調查的結果雖未發見微量元素(B,Cu,Zn)之缺乏或錳過多症狀，但硼、鋅則與收量有相當的相關。

表 5. 荔枝調查園葉片養分濃度之平均與範圍

Table 5. Nutrient level (range and mean) of leaves sampled in lychee orchards.

Nutrient	Parameter	cv. Haak Yip		
		Anthesis (Feb.-Apr.)	Fruit est (May)	One month after fruit set(Jun.)
N(%)	Range	1.48-2.60	1.51-2.43	0.94-2.61
	Mean±S. E.	1.97±0.24	1.94±0.20	1.94±0.29
	C. V. %	12	11	15
P(%)	Range	0.06-0.12	0.07-0.14	0.07-0.11
	Mean±S. E.	0.09±0.01	0.09±0.02	0.09±0.01
	C. V. %	16	18	10
K(%)	Range	0.39-1.15	0.26-1.08	0.23-1.10
	Mean±S. E.	0.67±0.19	0.66±0.21	0.58±0.20
	C. V. %	29	31	35
Ca(%)	Range	0.20-1.85	0.19-1.85	0.28-1.88
	Mean±S. E.	0.82±0.40	0.89±0.36	1.00±0.37
	C. V. %	48	41	37
Mg(%)	Range	0.16-0.75	0.10-0.75	0.11-0.87
	Mean±S. E.	0.36±0.13	0.39±0.14	0.43±0.18
	C. V. %	37	36	42
Fe(mgkg^{-1})	Range	56-196	51-146	50-216
	Mean±S. E.	102±29	96±21	109±29
	C. V. %	28	22	27
Mn(mgkg^{-1})	Range	42-889	44-1085	56-1266
	Mean±S. E.	375±263	447±313	515±352
	C. V. %	70	70	68
Cu(mgkg^{-1})	Range	5-31	3-28	3-34
	Mean±S. E.	11±5	9±4	11±7
	C. V. %	41	46	66
Zn(mgkg^{-1})	Range	10-39	10-47	17-83
	Mean±S. E.	21±5	26±10	34±15
	C. V. %	27	40	43
B(mgkg^{-1})	Range	6-67	7-67	7-52
	Mean±S. E.	28±13	29±13	29±12
	C. V. %	45	45	41

(續表 5)

Nutrient	Parameters	cv. No Mai Tsz	
		Anthesis(Apr.)	Fruit set(May.)
N(%)	Range	1.36-1.90	1.36-1.92
	Mean±S. E.	1.64±0.14	1.62±0.14
	C. V. %	8	9
P(%)	Range	0.05-0.12	0.05-0.09
	Mean±S. E.	0.07±0.02	0.07±0.01
	C. V. %	21	13
K(%)	Range	0.22-0.82	0.30-0.70
	Mean±S. E.	0.41±0.16	0.48±0.10
	C. V. %	40	20
Ca(%)	Range	0.22-1.71	0.28-1.30
	Mean±S. E.	0.71±0.34	0.61±0.25
	C. V. %	48	41
Mg(%)	Range	0.16-0.47	0.19-0.40
	Mean±S. E.	0.30±0.09	0.29±0.06
	C. V. %	31	21
Fe($mgkg^{-1}$)	Range	44-108	47-164
	Mean±S. E.	6±15	74±31
	C. V. %	22	41
Mn($mgkg^{-1}$)	Range	15-894	20-1235
	Mean±S. E.	259±192	426±387
	C. V. %	74	91
Cu($mgkg^{-1}$)	Range	3-20	1-13
	Mean±S. E.	7±4	4±3
	C. V. %	61	75
Zn($mgkg^{-1}$)	Range	6-21	13-36
	Mean±S. E.	10±3	21±7
	C. V. %	35	33
B($mgkg^{-1}$)	Range	11-41	10-40
	Mean±S. E.	18±7	17±7
	C. V. %	37	41

表 6. 荔枝調查園葉片養分濃度常現範圍(65%調查植株的葉片養分濃度範圍)

Table 6. Frequent range of nutrient level (65% samples within range)

Nutrient	Haak Yip			Austrlian standard [z] (Menzel et al., 1990)	Australian frequent range [z] (Menzel et al., 1990)
	Anthesis (Apr.)	Fruitset (May.)	One month after fruit set(Jun.)		
N %	1.72-2.20	1.75-2.16	1.68-2.19	1.50-1.80	1.50-2.00
P %	0.08-0.10	0.08-0.11	0.08-0.10	0.14-0.22	0.15-0.23
K %	0.49-0.82	0.49-0.86	0.40-0.80	0.70-1.10	0.60-1.00
Ca %	0.47-1.21	0.53-1.21	0.64-1.38	0.60-1.00	0.80-1.20
Mg %	0.22-0.47	0.24-0.50	0.26-0.58	0.30-0.50	0.25-0.50
Fe $mgkg^{-1}$	78-129	73-117	82-129	50-100	50-100
Mn $mgkg^{-1}$	101-669	132-793	167-881	100-250	100-250
Cu $mgkg^{-1}$	8-13	6-10	6-14	15-30	15-27.5
Zn $mgkg^{-1}$	16-24	15-35	22-44	10-25	10-20
B $mgkg^{-1}$	19-36	17-39	15-40	25-60	20-70

Nutrient	No Mai Tsz		Austrlian standard [z] (Menzel et al., 1990)	Australian frequent range [z] (Menzel et al., 1990)
	Anthesis (Apr.)	Fruitset (May.)		
N %	1.48-1.74	1.51-1.71	1.50-1.80	1.50-2.00
P %	0.06-0.08	0.06-0.08	0.14-0.22	0.15-0.23
K %	0.26-0.55	0.39-0.55	0.70-1.10	0.60-1.00
Ca %	0.41-0.97	0.42-0.83	0.60-1.00	0.80-1.20
Mg %	0.22-0.40	0.23-0.36	0.30-0.50	0.25-0.50
Fe $mgkg^{-1}$	52-77	54-80	50-100	50-100
Mn $mgkg^{-1}$	125-415	123-817	100-250	100-250
Cu $mgkg^{-1}$	4-9	2-7	15-30	15-27.5
Zn $mgkg^{-1}$	7-13	14-27	10-25	10-20
B $mgkg^{-1}$	14-22	12-22	25-60	20-70

[z] mature leaves at the section under panicle sampled at 1-2 weeks after panicle emergence.

㈡葉片養分從花期(包含始花)至著果後一個月(或採收前一個月)之季節性變化

圖 2 爲從花期(包括始花，2-4 月)至著果後一個月(6 月初)黑葉荔枝葉片養分含量受生育階段影響之季節性變化。對大部份要素而言，始花花期(2-4 月)至謝花著果(5 月)均相當穩定，唯自著果後因果實(果皮)開始發育，果肉繼而迅速增長，因此葉片中養分含量出現不同幅度的增減。荔枝果實發育對葉片鉀之奪取(removal) 最明顯而降低幅度最大，氮、磷、硼、銅於 3 個採樣期的養分含量均甚平穩，而葉片鈣、鎂、錳、鋅及鐵則累積漸增。關於生育階段或葉齡影響葉片養分濃度的研究，Kotur 與 Singh[19]逐月分析荔枝葉齡 1～9 個月的秋梢，其葉片氮、磷、鉀濃度隨葉齡而減少，而鈣、鎂、硼、錳及鐵則逐漸增加。Menzel 等[20]分析非結果枝條的荔枝葉片亦得相同的趨勢。至於結果枝之葉片養分變化，大部分之要素於開花至剛謝花著果的含量變化係呈穩定狀態[22]。果實發育期鉀較其他要素從結果枝葉(reserve)移入果實(sink)而降低的現象最爲明顯，而非結果枝葉片鉀於整個果實發育期則相當穩定。N 及 P 含量雖從開花至果熟期間亦降低，但其降低程度遠不如 K 明顯。本試驗採樣僅至著果後一個月(果實果肉即將迅速發育前)，若延續採樣也許 N 及 P 降低的程度會增大。Menzel 等人(1988)[22]指出在果實發育初期(著果後 4-6 週)通常養分吸收尚慢，至 7-8 週後當果肉迅速發育後，養分吸收則可達高峰。

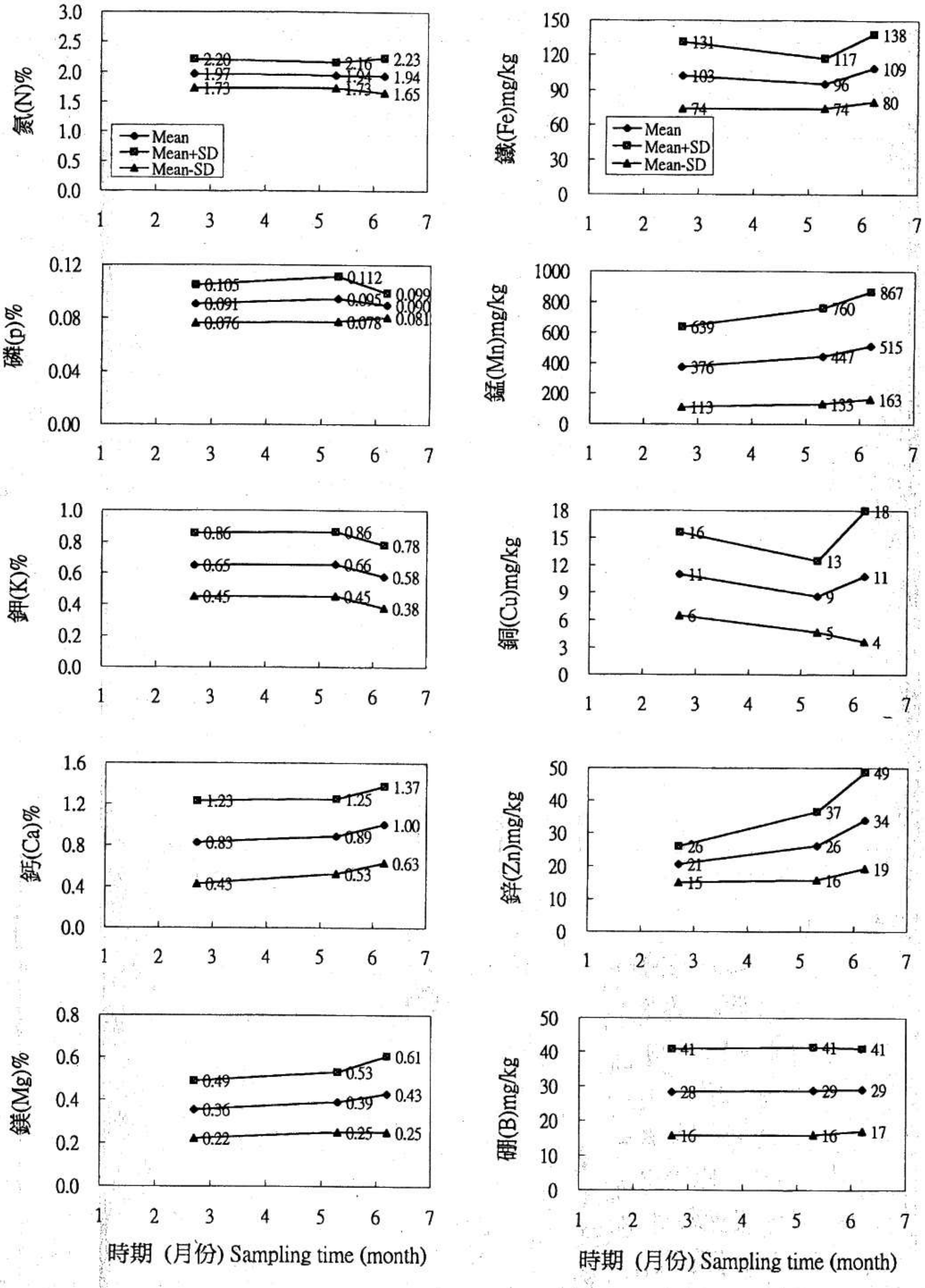

圖 2. 黑葉荔枝葉片養分季節性變化

Fig. 2. Seasonal pattern of leaf nutrients from anthesis to one month after fruit set.(cv.Haak Yip)

㈢葉片要素含量與荔枝產量之關係

試驗調查分別以果園(調查 2-3 株樹，求其平均值)及個別植株(19 果園計 55 株)為觀測單位，尋求各種要素含量與收量、生育之關係。表 7 顯示 3 個採樣期中各園平均葉片氮含量均與收量呈負相關，其中以花期(2 月底-4 月初)採樣之相關最顯著(r=-0.711**)，而以 55 單株求得之相關從花期至著果後一個月漸不顯著。如圖 3 所示，在花期時葉片氮素含量若高於 1.90%以上，荔枝會因生長與抽梢旺盛，以致抽穗與結實劇減，而產量降低，依迴歸方程式求得最高產量 90%之葉片氮素範圍為 1.50-1.90%，與張等[6]訂定之適宜範圍吻合。至於葉片磷含量則僅於花期與產量呈正的相關，似乎收量較高(60 公斤以上)的植株，其葉片磷含量大致高於 0.09%以上(圖 4)。但因本省中部荔枝園多屬強酸性土壤，其對磷之固定能力強，致降低磷肥之肥效或土壤磷之有效性。因調查園之葉片磷含量範圍低於 0.14%或 0.12%，可能為葉片磷含量與收量呈正相關之原因。

表 7 亦顯示，葉片鎂含量與收量存有正相關的效應，而葉片鈣含量對收量的影響則與葉片鎂含量有近似的效應，惟花期葉片鈣含量與收量無顯著的關係，隨葉齡累增至謝花著果後(5 月)，葉片鈣含量才與收量呈正相關。由於葉片鎂含量隨著生育期或葉齡而累增，圖 5 顯示若花期葉片鎂含量於 0.30%以上，至謝花著果期與著果後一個月似乎皆可維持於 0.43%以上，而有利於中上收量(60 公斤)之獲得；圖 6 之葉片鈣含量如於謝花著果期及著果後一個月皆已累積達 0.90%以上，則可有較多數之植株之收量為 60 公斤以上。葉片硼含量也有提昇收量的正相關關係(表 7 及圖 7)，許多產量中上(60 公斤以上)之植株，其花期之葉片硼含量常高達 25mgkg^{-1} 以上(圖 7)。綜合圖 5、6、7，顯示一般酸性土壤果園，鈣、鎂及硼(若葉片硼濃度低於 25mgkg^{-1})的補充將有利於荔枝之增產。

表 7. 荔枝葉片要素含量與產量之相關係數 r 值

Table 7. The correlation coefficients (r) of leaf nutrients related to lychee yield.

Nutrient	Sample size	Anthesis (Apr.)	Fruit set (May.)	One month after fruit set (Jun)
N	19 orchards	-0.711**	-0.557**	-0.509*
		(R^2=0.612**,二次式)	(R^2=0.460**,二次式)	(R^2=0.419**,二次式)
	55 plant	-0.438**	-0.287*	-0.218
p	55 plant	0.498**	0.221	-0.204
Mg	18 orchards	0.591**	0.741**	0.704**
	52 plant	0.561**	0.679**	0.644**
Ca	19 orchards	0.181	0.547**	0.690**
	55 plant	0.065	0.298*	0.431**
B	18 orchards	0.495*	0.574*	0.714**
	52 plant	0.543**	0.527**	0.612**
Zn	55 plant	0.202	0.159	0.374**

*,** significant difference at 5% and 1% levels, respectively.

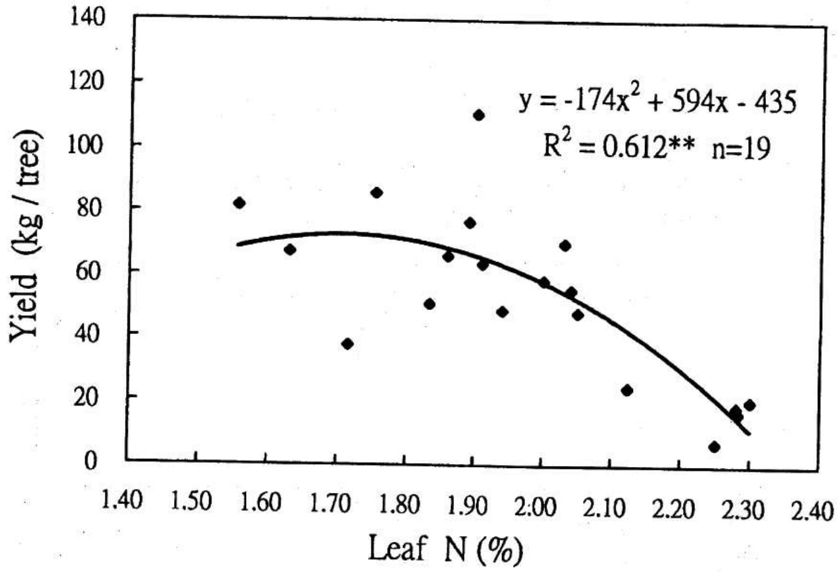

圖 3. 葉片氮濃度與收量之關係(花期，1997 年 2 月-4 月)

Fig.3. Effect of leaf N content on fruit yield of lychee. (anthesis,1997 Feb.-Apr.)

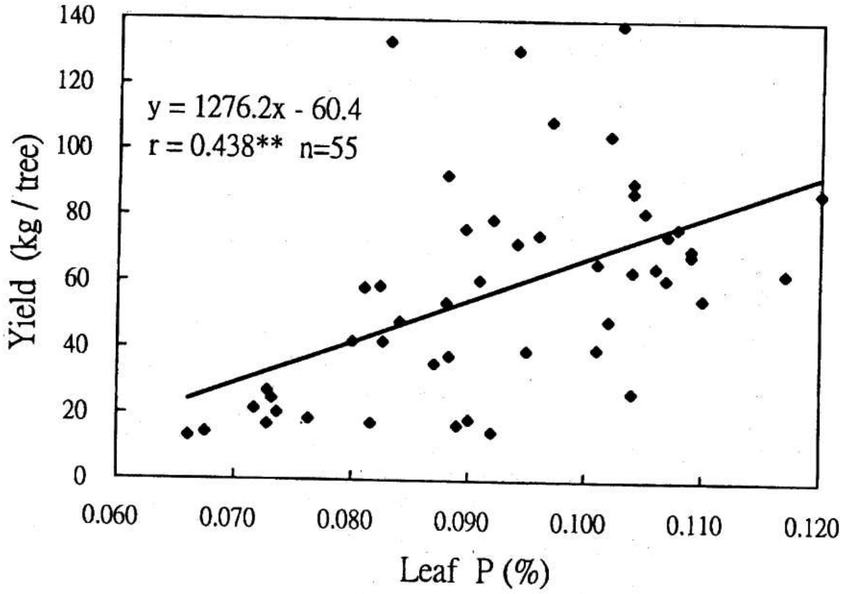

圖 4. 葉片磷濃度與收量之關係(花期 1997 年 2 月-4 月)

Fig.4. Effect of leaf P content on fruit yield of lychee. (anthesis,1997 Feb.-Apr.)

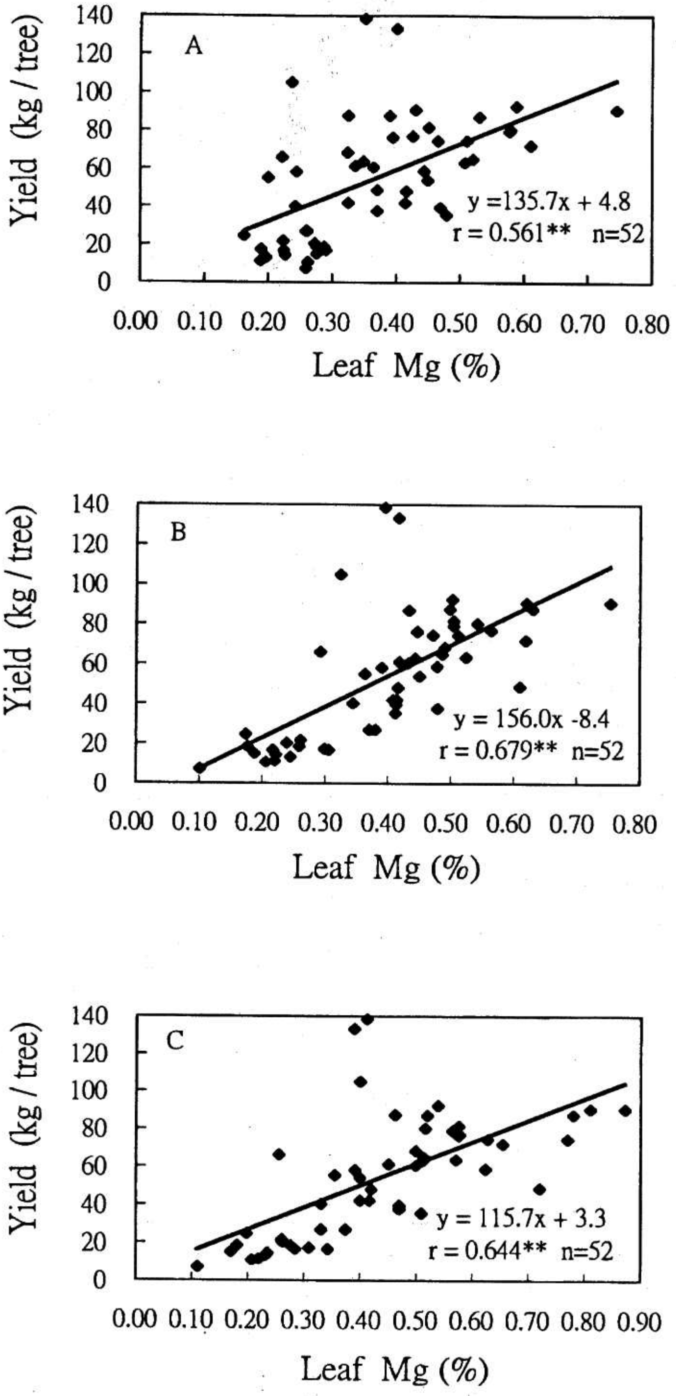

圖 5. 葉片鎂濃度與收量之關係(A：花期 1997 年 2-4 月，B：謝花小果期 5 月，C：著果後一個月 6 月)

Fig. 5. Effect of leaf Mg content on fruit yield of lychee.

(A：anthesis,1997 Feb.-Apr B： fruit set,May C：a month after fruit set,Jun.)

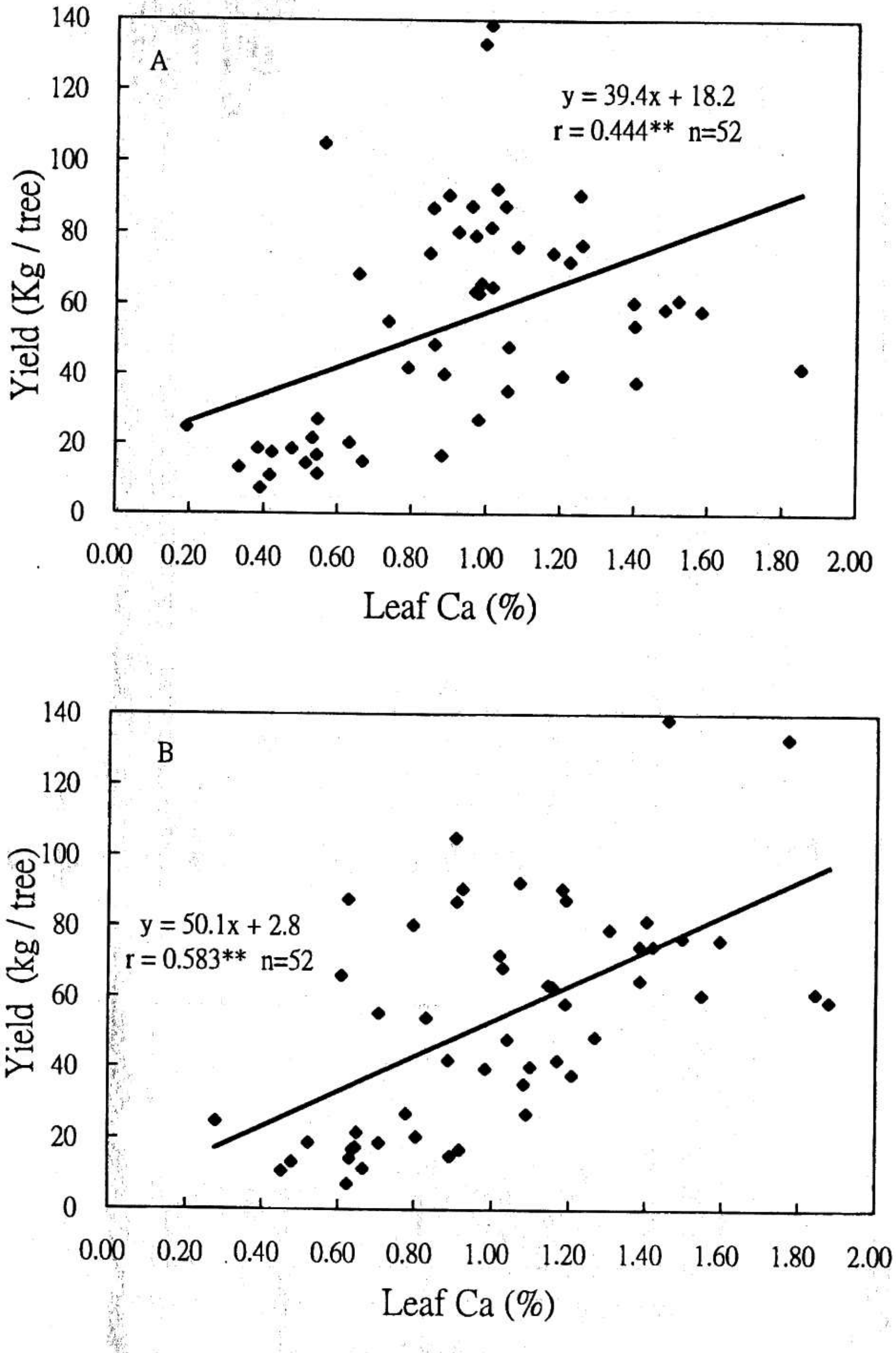

圖 6. 葉片鈣濃度與收量之關係(A：謝花著果 1997 年 5 月 B：著果後一個月 6 月)

Fig. 6. Effect of leaf Ca content on fruit yield of lychee.
(A：fruit set,1997 May B：a month after fruit set,Jun.)

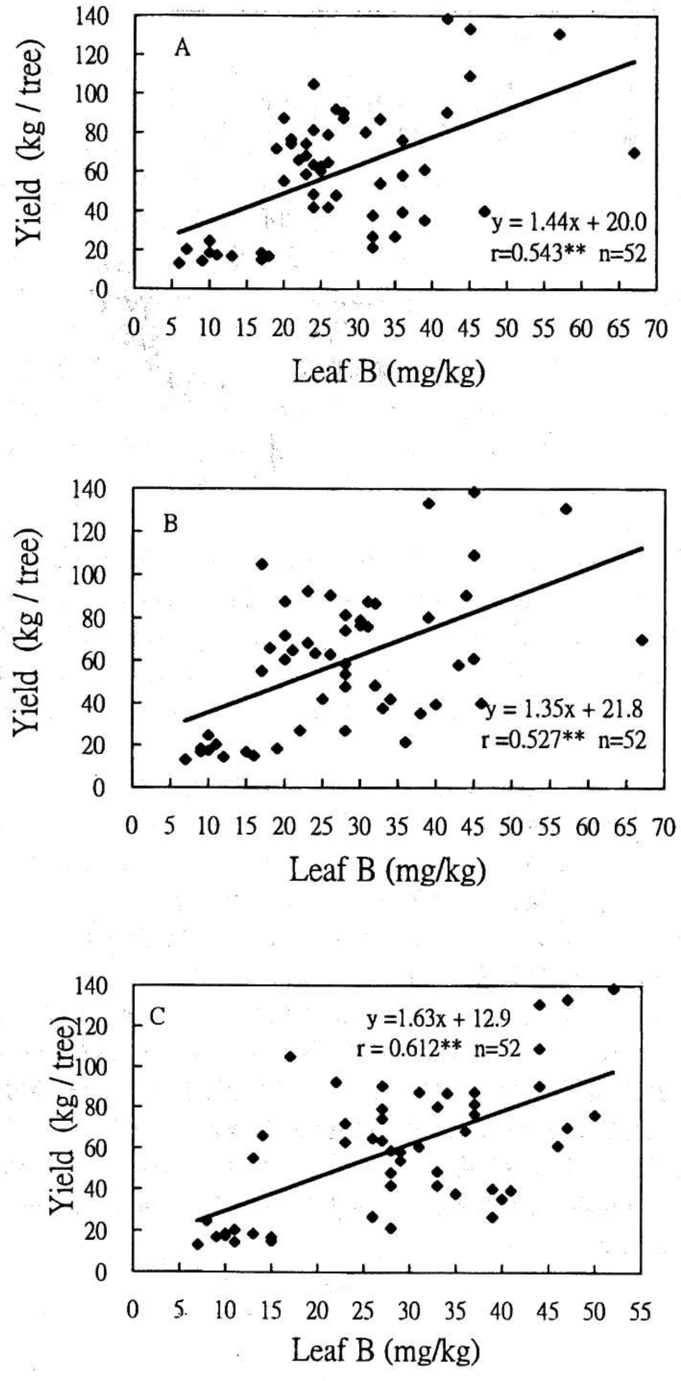

圖 7. 葉片硼濃度與收量之關係(A：花期 1997 年 2 月底-4 月初 B：謝花著果 5 月 C：著果後一個月 6 月)
Fig.7. Effect of leaf B content on fruit yield of lychee.(A：anthesis,1997 Feb.-Apr. B：fruit set,May. C：a month after fruit set, Jun.)

㈣葉片要素與荔枝營養之探討

1.大量要素 NPK 與荔枝營養之關係

據 Roy[26]之調查，收量與葉片氮素含量爲正相關，而本試驗調查結果則完全相反，此可能因本試驗葉片氮素含量範圍的下限均高於 1.48%以上，而已處於充足範圍之故，而由於奢侈吸收氮素的結果，可能使植株生長旺盛，秋冬繼續抽梢而延遲或無法進入花芽分化所需之休眠狀態，致無法順利抽穗與開花結果而降低收量[29]，若本調查園的葉片氮素濃度處於缺乏不足範圍，則可能與收量呈正相關。調查結果顯示荔枝葉片 N 含量與葉片 Mg 含量呈顯著負相關(表 8)，氮肥大量施用可能會抑制鎂的吸收量。葉片氮素含量過高不利於糖度與收量的現象及葉片氮與葉片鎂養分之負相關亦可見於柑桔[3,7]及葡萄[4]等果樹作物。本試驗葉片鉀含量與收量及果粒重或果實大小無明顯相關，然 Roy[26]等之報告，葉片鉀則與荔枝收量有正相關之關係，而 Zhuang[30]等於花期葉面噴施 0.3%KH_2PO_4 有減少落果與增加收量的作用。葉片鉀含量及葉面施鉀肥似有抑制冬梢萌發，促進休眠及開花之作用[12,21]。南非 Koen 等[17]指出荔枝葉片磷含量與收量相關性不大，且果實品質並不受磷供給之影響。本試驗調查的結果，三個採樣時期僅花期葉片磷含量與收量有正相關的關係(表 7)。

2.次要要素 Ca、Mg 營養與荔枝營養

荔枝葉片鎂含量與收量呈正相關之原因，固然可能是調查結果枝之氮、鎂葉片養分間的負相關或拮抗所致，然鎂對許多果樹之生產確有相當良好的效果，尤其對酸性土壤的果園具有其重要性；例如柑桔缺鎂果實糖度及品質均降低[7]，而葡萄的葉片鎂濃度與每果穗重及每果粒重呈正相關[4]。葉片鈣與收量呈正相關的原因，乃因鈣營養可強固細胞組織，爲果皮組織或發育之重要成分，果實吸收之鈣、鎂總量約有 50-60%分佈於果皮中[27]。

3.微量要素營養 B、Cu、Zn 與荔枝營養

葉片硼濃度對收量有促進之現象，其原因可能與開花結果有關。缺硼植株僅管樹體生長不受影響，但其花器易凋萎壞死，或花粉管減少萌長或減弱其活力，致結實不良而減收[14]。至於鋅對荔枝收量之影響，本試驗調查三個採樣期僅著果後一個月葉片鋅含量與收量呈正相關，花期及謝花著果則雖有正相關的趨勢，但未達 5%顯著水準。試驗調查之葉片 Cu 濃度雖低於澳州標準下限，然未發現缺 Cu 症狀。花期前後與果實發育期間微量要素硼、鋅等之葉面施用應可增加開花結實及減緩落果率[15,25,28]。

總之，果實發育需大量來自葉片及枝條之養分。據 Menzel[24] 研究荔枝之養分分配(partition)，指出果實所需之 N、P、K 養分量約爲開花結果前整株荔枝樹之 43-48%，所需 Ca、Mg 養分量則爲整株荔枝樹之 25%左右。就荔枝果樹生理的觀點，養分的移動係自葉片大量移往果實，若在開花後才施肥，可能無法及時補充與維持葉片養分濃度而供果實發育之用。基於施肥效率之增進，原則上易移動之要素如 N、P、K 宜及早於開花結實前施用，最好在採收後即施用，以增強樹體養分貯源，而不易移動之次要或微量元素或可於花期及果實發育過程中以葉面噴施來補充。

表 8. 荔枝葉片鎂與葉片氮及鈣含量之關係(19 園，55 株)

Table 8. The correlation coefficients (r) of leaf N and Ca related to leaf Mg (19 orchards，55 lychee trees)

Sampling time	Anthesis (Apr.)	Fruit set (May)	One month after fruit set (Jun.)
Leaf N and Mg	-0.635**	-0.383**	-0.454**
Leaf Ca and Mg	0.716**	0.637**	0.623**

*,** significant difference at 5% and 1% levels, respectively.

㈤荔枝葉片營養診斷技術之探討

前已述及土壤測定於營養診斷應用上之限制，藉葉片分析以診斷作物營養狀態，推測需肥料量或推薦肥培管理，係基於作物之生育量或收量、品質與葉片中要素濃度有特定之函數關係[3]。荔枝葉片乾物量雖僅佔植株總乾物量之 28%，然所有養分存聚量最多之器官爲葉片(約 40-60%)，其他小於 1cm 直徑之枝條(twig)存聚之養分量僅爲 5-15%，1-3cm 及 3-5cm 直徑之枝條(branch)則分別爲 15-20%，5-10%[24]。葉片可謂養分的最大匯池(pool or reservior)，因其爲代謝活躍而養分含量最高的器官，故爲最適合作診斷採樣之部位。葉片分析採樣期之訂定選擇原則爲(1)季節變化最小與穩定之生育期；(2)最能反應樹體營養狀態之生育期；(3)葉片養分對收量最有影響之生育期。採樣部位則以生育程度(葉齡)符合或接近於該生育期及易確認之部位爲原則。綜合㈡㈢的結果，花期的葉片氮及磷含量對收量有關鍵性之影響(相關 r 值最顯著)，且樹體養分於花期處於蓄積待果實發育直前之狀況，最能反應樹體養分狀態(nutrient status)，又花期至謝花著果養分季節變化頗平穩，故營養診斷採樣方法可訂爲以花期(包括始花，2-4 月)爲主，採花(果)穗下方成熟葉片供分析。

依據本營養調查之結果，綜合㈠㈡㈢㈣之討論，並參酌採樣方法(時期與部位)與本調查相同之張等(1986)的試驗結果與 Menzel 等之研究(1990)，修訂黑葉荔枝葉片養分濃度適宜範圍如表 9 所示。至於糯米糍因收量遠較黑葉不穩定，且調查園數不足，尚無法提出營養診斷葉片要素濃度適宜範圍。

表 9. 黑葉荔枝葉片分析值暫定標準(花期)

Table 9. Tentative leaf nutrient standard for Haak Yip lychee(sampled at anthesis).

(N)	(P)	(K)	(Ca)	(Mg)
		%		
1.50-1.90	0.12-0.27	0.70-1.00	0.60-1.00	0.30-0.50
(Fe)	(Mn)	(Cu)	(Zn)	(B)
		$mgkg^{-1}$		
50-100	100-250	10-25	15-30	25-60

誌　謝

本調查試驗承行政院農業委員會(計畫編號：87 科技-1.1 糧-10(2))及台灣省政府經費補助。謹致謝意。

引用文獻

1. 農林廳。1997。台灣農業年報，第 127 頁。
2. 豐年社。1995。台灣農家要覽，農作篇Ⅱ：第 39 頁。
3. 連深、張淑賢、黃維廷、吳婉麗。1989。柑桔營養診斷之基礎及應用現況。果園作物營養診斷應用研習會專輯，台灣省農業試驗所特刊 28 號，第 1-26 頁。
4. 黃維廷、張淑賢、吳婉麗、連深。1997。葡萄氮鉀素營養與果實收量、品質之關係研究。農林廳 85 年度土壤肥料試驗研究成果報告，第 1-25 頁。
5. 張淑賢。1981。本省現行植物分析法。作物需肥診斷技術，臺灣省農業試驗所特刊 13 號，第 53-59 頁。
6. 張淑賢、黃維廷、連深。1986。荔枝營養之季節性變化與肥培管理之研究。農林廳 75 年度土壤肥料試驗工作報告。
7. 張淑賢、黃維廷、連深、吳婉麗。1992。土壤及葉片營養診斷應用於柑桔園肥培管理之研究。農林廳 81 年度土壤肥料試驗報告，第 167-195 頁。
8. 張愛華。1981。本省現行土壤測定方法。作物需肥診斷技術，臺灣省農業試驗所特刊 13 號，第 9-36 頁。
9. 鄧永興。1978。荔枝營養季節性變化之研究。國科會第十五屆科技人員國內進修研究報告。
10. 羅瑞生、林順台。1981。荔枝三要素需要量試驗。農林廳 69 年度土壤肥料試驗報告，第 100-119 頁。
11. Anonymous, 1983. Plant tissue and water interpretation manual. Consolidated fertilizers, Brisbane. P328.
12. Banta,E.S. 1952. Behold the lychee. Am. Fruit grower. 72：10-13.
13. Cull,B.W. 1977. Report on overseas study tour. Queensl. Dep. Primary Ind. P1-92.
14. Hanson,E.J., and P.J.Breen. 1985. Effects of fall boron sprays and environmental factors on fruit set and boron accumulation in 'Italian' prune flowers.J.Am.Soc. Hortic.Sci.110：389-392.
15. Hoda,M.N., and N.B.Syamal. 1975. Effect of zinc and growth regulators on sex,fruit formation and abscission layer in litchi. Sci.Cult. 41：448-450.
16. Landon,J.R.1984. Booker tropical soil manual. Booker Agricultural International Limited. P134.
17. Koen,T.J., W. Langenegger, and G. Smart. 1981. Determination of the fertilizer requirements of litchi trees. Inf. Bull. Citrus Sub-Trop. Fruit Res. Inst. 103：9-12.
18. Koen,T.J., and G.Smart. 1983. Fertilization of litchis. citrus Sub-trop. Fruit Res. Inst. P1.
19. Kotur,S.L., and H.P.Singh. 1993. Leaf-sampling technique in litchi (Litchi chinensis). Indian Journal of Agricultural Sciences. 63(10)：632-638.
20. Menzel,C.M., M.L.Carseldine, and D.R. Simpson. 1987. The effect of leaf age on nutrient composition of non-fruting litchi (*Litchi Chinensis* sonn.).J. Hortic.Sci.62：273-279.
21. Menzel, C.M., and D.R.Simpson. 1987. Lychee nutrition：A review. Sciencia Horticulturae. 31：195-224.
22. Menzel, C.M., M.L Carseldine, and D.R.Simpson. 1988. The effect of fruiting status on nutrient composition of lichi (*Litchi chinensis* Sonn.) during the flowering and fruiting season. J.Hortic.Sci. 63(3)：547-556.
23. Menzel,C.M., and D.R.Simpson. 1990. Nutritional studies on lychee trees in subtropical Australia. Acta-Hortic. 275：581-585.
24. Menzel,C.M., D.K.Simpson, and G.F.Hayolou. 1992. Partitioning of nutrients in bearing lychee trees (*Litchi chinensis* Sonn.). Acta-Hortic. 321：535-540.
25. Pujari,M.M., and N.B.Syamal. 1977. The effect of foliar spray of growth substances and minor elements on fruit drop in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.).Proc.Bihar.Acad.Agric.Sci.25：27-30.
26. Roy,R.N., D.P.Rao, and S.K.Mukherjee. 1984. Orchard efficiency analysis of litchi. Indian J.Hortic.41：16-21.
27. Singh,M.P. 1952. Mineral composition of fruits of the litchi(*Litchi chinensis* Sonn.) and loquat(*Eriobotrya japonica* Lincll.).Indian J. Hortic. 9：53-58.
28. Verma,S.K.,B.P.Jain, and S.R.Das. 1980. Preliminary studies on the evaluation of the effect of growth substances with minor elements in controlling fruit drop in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) Haryana J. Hortic.Sci. 10：4-10.
29. Wada,K., and Y.Shinozaki. 1985. Flowering response in relation to C and N contents of pharbitis nil plants cultured in nitrogen-poor media. Plant Cell Physiol. 26：525-535.
30. Zhuang,W.,Y.Jinan, Z.Lin, R.Chen, and J.Chen. 1983. A resume of research conducted on the subject of how to promote fruit bearing in mature lychee trees. J.Fujian Agric. College. 12：297-305.

Nutrition Studies on Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) Orchards in Central Taiwan[1]

Wei-Tin Huang[2], Yuh-Ming Huang[3], Wei-Min Hsiang[2], Ming-Hui Chang[2], Mu-Lien Lin[2], Chong-Ho Wang[2] and Woan-Lih Wu[2]

Summary

The aims of this study were to establish the mehtod and the reference of nutrient diagnosis as guides for fertilization improvement in lychee orchards. Thirty farms located in central Taiwan were selected to survey the changes of nutrient contents of leaves and yields of cvs Haak Yip and No May Tsz, and of soil fertility during the growing season in 1997.Some nutrients' contents of leaves were significantly related to each other. Data revealed that the fruit yield of cv. Haak Yip was described well by nitrogen content in a quadratic relation and with the highest yield at 1.71% of nitrogen. Results also showed that the nitrogen content for most farms were higher than this value. According to the relationship the fruit yield will be guaranteed above 90% to maximum yield as nitrogen content of leaves remained at the range of 1.5% to 1.9% at anthesis stage. The fruit yield was related to contents of P, Mg, Ca, and B by first order at highly significant level, with correlation coefficients (r) at 0.498, 0.561, 0.444, and 0.543, respectively, for 52 observations. As the fruit yield 60 kg/tree expected, the nutrient content of P, Mg, Ca, and B should rise to 0.09%, 0.30%, 0.90%, and 25 $mgkg^{-1}$, respectively, by fertilizers applied. Most characters of soil fertility were low for soils determined, more than 85% of soil pH of surface soil samples was very strongly acid (pH<5.0), and exchangeable contents of Ca and Mg were lower than 500 $mgkg^{-1}$ and 50 $mgkg^{-1}$, respectively. The anthesis stage is the best period to sample matured leaves at the section followed the flowering section. The suggested criteria of nutrients of leaves at anthesis stage for Haak Yip are N, 1.60-1.90%; P,0.12-0.27%; Ca,0.60-1.00%; Mg,0.30-0.50%; Fe,50-100 $mgkg^{-1}$; Mn,100-250 $mgkg^{-1}$; Cu,10-25 $mgkg^{-1}$; Zn,15-30 $mgkg^{-1}$; and B,25-60 $mgkg^{-1}$.

Key Words：Lychee, Anthesis, Sampling method, Leaf nutrients standard, Nutrient diagnosis.

---

1. Contribution No. 1961 from Taiwan Agricultural Research Institute. This paper is part of the master thesis of senior anthor.
2. Respectively, Assistant, Associate Researcher, Assistant, Senior chemist and Head, Associate Researcher, Assistant, Department of Agricultural Chemistry, TARI, Wufeng, Taichuang Taiwan, ROC.
3. Associate professor, Department of Soil and Environmental Science, National Chuang Hsing University,Taichuang,Taiwan, ROC.

中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）47(4)：408～418（1998）

蓮霧汁生產細菌纖維素之研究[1]

楊淑惠[2]

摘要：細菌纖維素(bacterial cellulose)爲利用木質醋酸菌(*Acetobacter xylinum*)發酵椰水或果汁所產生的二次代謝產物，常添加於市售果凍中或添加於冰淇淋等相關產品中，做爲懸浮劑或調稠劑增加產品的咀嚼性及保水性、保形性。本實驗以採收後期的蓮霧爲原料，探討以蓮霧汁生產細菌纖維素之可行性及經發酵後培養基質之成分變化。實驗結果顯示，以蓮霧汁生產細菌纖維素的產量約爲 31%，經接菌發酵後培養基質中的可滴定酸度由 0.21%上升爲 0.98%，蘋果酸的變化不明顯，檸檬酸、琥珀酸、葡萄糖酸及醋酸則大都呈上升趨勢，醋酸爲木質醋酸菌發酵後產生的另一項二次代謝物，其含量隨著發酵時間的延長先由無增加至 0.37%，而後明顯減少爲 0.04%。發酵期間對醣類的利用率(7.0%)並不高，但轉換率爲 91.3%，比例頗高。

關鍵詞：蓮霧汁、細菌纖維素、基質成分。

前　　言

細菌纖維素(bacterial cellulose)爲培養木質醋酸菌於含有機酸及糖類的椰水或果汁中，經發酵在培養液表面所形成乳白色的二次代謝產物，不溶於水、堅韌的凝膠狀，其厚度可達數公分的纖維質[1,7,8]。一般稱爲椰果(nata)、那塔或那大等[1,2]，細菌纖維素是由 0.9% 纖維素、0.3%結合水及 98.8% 自由水所構成[14]。普遍添加於市售果凍中，用以增加其咀嚼性，或添加於冰淇淋等相關產品中，增加產品的平滑質地、保水性及保形性，防止冰淇淋在融解後變形；工業用途則可製成包括醫用材料、造紙、玻璃纖維濾片及擴音器的震動膜等[5,6,17]。東南亞國家如泰國、印尼、菲律賓等地區，因盛產椰子、氣候適宜、成本低而成爲細菌纖維素的主要產區[7,8,12,14]。台灣雖然椰子產量不多，但四季各式水果豐盛，在高品質果實出售至市場後，留在果園內的常常是大量的格外品及採收後期品質不良的果實，這些產品因售價不敷運銷成本，常有任其棄置於田間或掛在樹上不採收的情形。以蓮霧爲例，其棄置量可能佔總產量的三分之一左右，如果加上天候等因素造成的落果，廢棄量將更大。爲增加省產水果的利用性，本實驗擬以採收後期的蓮霧爲原料，探討以蓮霧汁生產細菌纖維素之可行性，並探討其培養基質之成分變化，以做爲日後增加生產量之參考。

材料與方法

一、實驗材料

㈠菌株

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1962 號。
2. 本所鳳山熱帶園藝試驗所分所助理。臺灣省　高雄縣　鳳山市。

木質醋酸菌 *Acetobacter xylinum* Axy1220，由加拿食品企業有限公司提供。

(二)藥品

1.木質醋酸菌培養基如 yeast extract、agar 等均購自美國 Difco 公司。

2. 一般化學藥品均購自德國 Merck 公司。

3. 高效液相層析之標準品

a.糖類標準品如果糖、葡萄糖及蔗糖等均購自美國 Sigma 公司。

b.有機酸標準品如蘋果酸、檸檬酸及醋酸等則分別購自 Sigma、Merck 公司。

二、實驗方法

(一)原料採收與前處理

分別採收屏東縣枋山及高雄縣六龜地區的後期蓮霧果實(*Syzygium samarangense*)，經打汁、分裝後，冷凍備用。

(二)菌元製備

取發酵後之底層母液， 塗抹於 YPG 固體培養(polypeptone 20 g，yeast extract 10 g ，glucose 20 g，agar 15%，稀釋至 1 公升，pH 6.6-7.0)，在 30℃恆溫箱中培養 24-28 小時，待長出菌落後，挑單一菌株於 YPG 液體培養基內， 再放入 30℃恆溫箱中振盪培養 2-3 天，作爲發酵之菌元。

(三)培養基質之製備

1. 蓮霧原汁培養基

取出分裝之冷凍蓮霧汁，經解凍、靜置後，取上層澄清液，加熱至沸騰，趁熱分別裝入培養容器內放冷。

2. 修飾培養基

澄清蓮霧汁添加 5%蔗糖、0.5%磷酸二氫銨及 0.1%醋酸，加熱至沸騰，趁熱分別裝入培養容器內放冷。

(四)發酵方法

依 Okiyama 等人[14]所提之二階段發酵法，經修飾後使用。菌株先經活化，接入 YPG 培養基中振盪培養二天後，取 10%(v/v)更新培養之菌液，接入蓮霧汁及修飾培養基質，並於 30℃培養箱中，繼續進行靜置培養 15 天。容器爲耐高溫的透明塑膠材質，大小爲長 ×寬× 高爲 6.0 ×7.0 ×10.0 公分。

(五)蔗糖水解率、總糖利用率及轉換率計算

經 HPLC 測定發酵液中果糖、葡萄糖及蔗糖之濃度，然後參考 Embusdado 等人[10]之公式計算。

1. 蔗糖水解率：蔗糖水解率(%)＝(發酵前蔗糖濃度－發酵最終蔗糖濃度) /發酵前蔗糖濃度×100

2. 總糖利用率：總糖利用率(%)＝(發酵前總糖濃度－發酵最終總糖濃度) / 發酵前總糖濃度×100

3. 醣類轉換率：醣類轉換率(%)＝發酵最終之細菌纖維素乾重 / (發酵前總糖濃度－發酵最終總糖濃度)×100

(六)細菌纖維素產量測定

依 Yamanaka 等人[17]之研究方法，取出細菌纖維素膜，以流動水漂洗 12 小時，置於不銹鋼架上滴水 30 分鐘，秤量，此即爲細菌纖維素膜之濕重；將此細菌纖維素膜放入已恆重之鋁盤上，於 105℃烘箱，烘乾至恆重，此即爲細菌纖維素膜之乾重，乾、濕重均以 g/150 ml 表示。

(七)發酵液之成分分析

1.有機酸含量測定[9]：樣品經 12,000 rpm 離心 10 分鐘，上層澄清液以 0.45μl 濾膜過濾。取 20μ

µl 樣品，注入 HITACHI 高效液相層析儀進行分析，分離管爲 Bio-Rad Aminex-HPX87H，分離管加溫器設定 40℃，偵測器爲 UV detector 波長 210 nm，移動相 0.01 N H_2SO_4，流速 0.6 ml/min.。

2. 糖質含量分析[9]：樣品製備同上 1 (1)之操作。分析儀器設定，偵測器爲 RI detector，其他同上 1 (2)之設定與操作。
3. pH 值測定：取適量發酵基質於室溫下測定。
4. 可滴定酸度測定(Titratable acidity)：取適量發酵基質，加入適當比例之蒸餾水，以 0.1N NaOH 滴定至 pH 8.1，以檸檬酸(%)計算。
5. 水份：精秤約 10g 新鮮樣品在 105℃下乾燥過夜，秤至恆量，以乾燥前後重量差異計算水份含量。
6. 粗蛋白質：精秤 2.0 g 新鮮樣本以 Semi-micro Kjeldahl 方法測定，氮含量以N%*6.25 表示之。
7. 粗脂肪：精秤 10 g 新鮮樣本以 Soxhlet 裝置，以乙醚抽取 16 小時後測定。
8. 粗纖維：精秤 10 g 之新鮮樣本，依 CNS 食品中粗纖維含量測定法測定。
9. 灰份：精秤新鮮樣品 10g，依據 CNS 水果及蔬菜汁飲料檢驗法測定。
10. 碳水化合物：以 100%減去水份、粗蛋白質、粗脂肪、粗纖維及灰份所得之值。
11. 抗壞血酸：取新鮮樣本 2.0 g 依 A.O.A.C.方法中之 2.6-Dichlorophenol-indophenol 指示劑滴定法測定。
14. 不溶固形物：參考 CNS 水果及蔬菜汁飲料檢驗法，精秤 10g 打汁樣品，放入 600ml 燒杯中，加去離子水至 200g 後，煮沸 30 分鐘，以已乾燥秤量之 Whatman No.41 濾紙過濾，再用熱水充分洗滌後，在 105℃烘乾過夜，測定濾紙增加之重量，即不溶固形物。

結　果

一、新鮮蓮霧汁之一般組成分

本實驗所使用之蓮霧材料爲冬季、採收後期的果實，品質略底於盛產期果實。蓮霧汁之可溶性固形物含量約 7.6-8.6 °Brix，pH 3.9- 4.3 左右，此含量與商業生產以椰乳生產椰果時，需將椰乳的可溶性固形物含量由 5.5 °Brix 調糖至 10 °Brix，並將 pH 值由 5.0 調酸至 3.6 的處理方式(何,1996)，蓮霧汁顯然頗爲適合作爲木質醋酸菌發酵生產細菌纖維素的基質(表 1)。蓮霧之可滴定酸度約在 0.21-0.24 %左右，醣類總含量約爲 6.55 %，以果糖(3.53 %)含量較高，葡萄糖(2.72 %)及蔗糖(0.3 %)含量次之。有機酸類總含量約爲 0.72 %左右，以琥珀酸含量 0.56 %爲主，檸檬酸(0.16 %)、蘋果酸(0.06 g%)等次之。其他一般成分包括粗蛋白質含量約 0.35 %，灰分含量 0.2 %，抗壞血酸含量約 4.5-5.5 mg %及不溶性固形物含量 0.30 %左右(表 2)。

表 1. 椰乳生產細菌纖維素所需之發酵基質與蓮霧汁、柑桔汁可溶性固形物及 pH 值之比較

Table 1. Comparison the soluble solid and pH value of coconut medium with wax-apple juice and citrus juice.

Fermented substrate	Total soluble solid (TSS)(°Brix)	pH value
Coconut milk(commercial)	5.5(dilute coconut milk)	5.0 (dilute coconut milk)
	↓ made	↓ made
	10.0	3.6
Wax-apple juice	7.8- 8.7	3.5-4.3
Citrus juice	10.0-10.5	3.9
Valencia juice	11.9-14.8	3.8

表 2. 新鮮蓮霧汁之一般組成分

Table 2. The chemical composition of fresh wax-apple juice

Compo sition	Moisture (%)	Crude protein (%)	Crude fat (%)	Ash (%)	Carbohy drate (%)	Titratable acidity (%)	Ascorbic acid (mg%)	Crude fiber (%)	TSS °Brix	Insoluble solid (%)
content	92.85	0.35	0.14	0.2	5.57-6.02	0.21- 0.24	4.5-5.5	0.79	7.6-8.6	0.30

二、不同發酵基質之細菌纖維素產量

許多研究報告顯示木質醋酸菌可以利用椰水、椰乳、蕃茄、鳳梨果皮、柑橘類及楊桃渣等等作爲發酵基質[2,4,5,7,8]生產細菌纖維素；爲使細菌纖維素產量增加，會在生長基質的碳源、氮源及 pH 值比例上做部分調整。爲方便農民可自行操作，本實驗以蓮霧原汁及添加葡萄糖(5%)、磷酸二氫銨(0.5%)、0.1%冰醋酸的修飾培養基爲發酵基質，並接種 10%木質醋酸菌菌元，於室溫中靜置培養，生產細菌纖維素。

由每日觀察及測量的結果顯示，隨著不同發酵時間，細菌纖維素形成，上浮至培養基的表面，發酵初期，修飾培養基中的細菌纖維素形成速度較快，在接種後三至四天，即可在培養液表面看到白色絮狀浮膜（濕重約 12.3 g/150 ml），隨著發酵時間延長，第十五天的產量爲 47.4 g/150 ml。蓮霧原汁培養基的細菌纖維素形成較慢，在接種後五、六天後可得到濕重 11.5 g/150 ml 的細菌纖維素，收集之最終產量爲 46.5 g/150 ml(圖 1)。由細菌纖維素烘乾重的變化結果(圖 2)顯示，兩種發酵基質之細菌纖維素的生產率，差異不明顯。

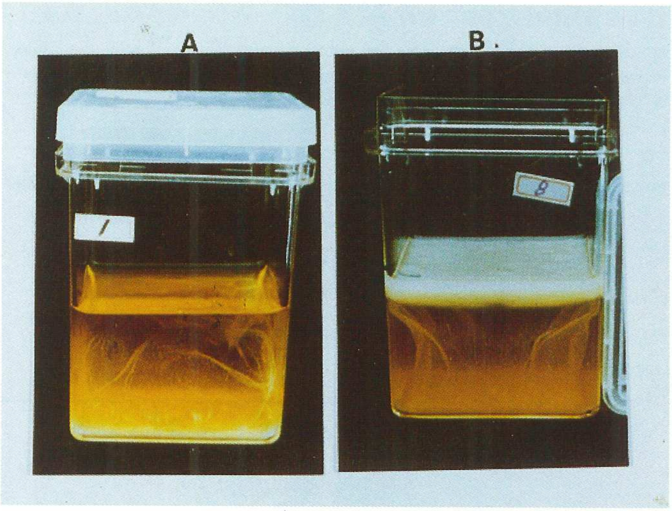

圖 1. 木質醋酸菌發酵蓮霧汁生產細菌纖維素之情形

Fig. 1. The bacterial cellulose produced by *A. xylinum* grown in wax-apple juice.

A. 木質醋酸菌接入蓮霧汁 2-3 天後細菌纖維素開始形成、上浮。

B. 接入木質醋酸菌 13 天後細菌纖維素生產情形。

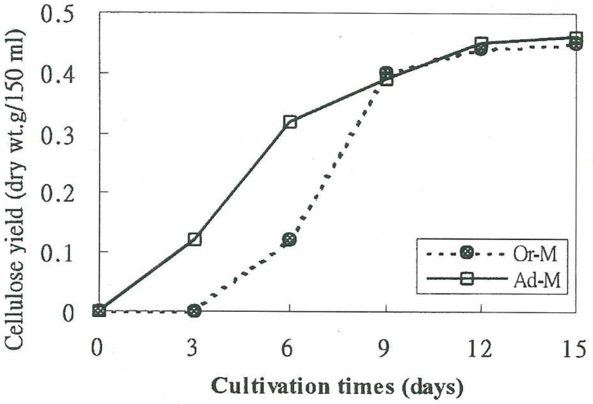

圖 2. 木質醋酸菌發酵期間細菌纖維素產量變化

Fig. 2. Changes of bacterial cellulose yield of *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

三、不同發酵液之成分變化

㈠酸度的變化

分析每三天取樣的發酵基質結果顯示，修飾培養基因添加 0.1%醋酸及 0.5 %磷酸二氫銨，故最初的的可滴定酸含量爲 0.63 %，蓮霧汁培養基的可滴定含量爲 0.21%，隨著發酵時間的延

長快速上升，在發酵至第九天，兩種培養基的可滴定酸含量達最高，分別增加為 1.38 %及 0.98 %，之後的變化則不顯著，上升趨勢相似 (圖 3)。外加酸類對發酵液 pH 值的影響不大，發酵終點的 pH 值，修飾培養基與蓮霧汁培養基分別為 pH 3.06 及 pH 3.18(圖 4)，修飾培養基的 pH 值比新鮮蓮霧汁的 pH 值低 1.2 左右，發酵液有明顯的酸味氣息。

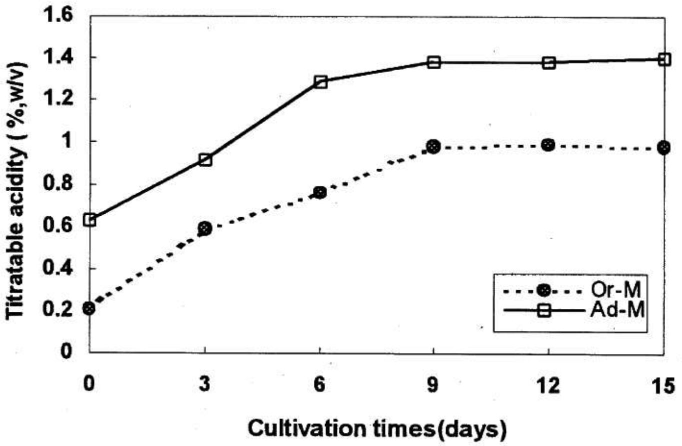

圖 3. 木質醋酸菌發酵期間培養基質之可滴定酸含量變化

Fig. 3. Changes of titratable acid contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

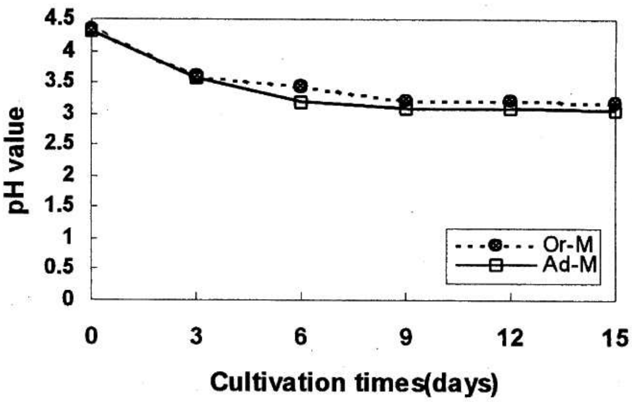

圖 4. 木質醋酸菌發酵期間培養基質之 pH 值變化

Fig. 4. Changes of pH value by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

㈡有機酸類含量變化

蓮霧汁中的有機酸類包括琥珀酸(succinic acid)、檸檬酸(citric acid)、蘋果酸(malic acid)及少量草酸(oxalic acid)。培養基經接菌發酵後，各類有機酸的變化不一，蘋果酸的變化不明顯，發酵期間的含量約為 0.015-0.019 %(圖 5)；檸檬酸、琥珀酸、葡萄糖酸及醋酸則大都呈上升趨勢，此種情形在兩種發酵基質的變化情形相似。檸檬酸含量由 0.19 %上升為 0.3 %左右 (圖 6)；葡萄糖酸則由最初的 0.014 %，在發酵完成後上升至 0.13 %；琥珀酸含量則由 0.84%增加為 1.22 % (圖 7)。經接入木質醋酸菌發酵後，除了會產生二次代謝物細菌纖維素外，另一項代謝物則為醋酸，修飾培養基的醋酸含量在第三天已達 0.57 g%，蓮霧汁培養基則在接菌後第六天醋酸含量上升為 0.37 g%，隨著發酵時間的延長，醋酸含量明顯下降至 0.04-0.05 % (圖 8)。

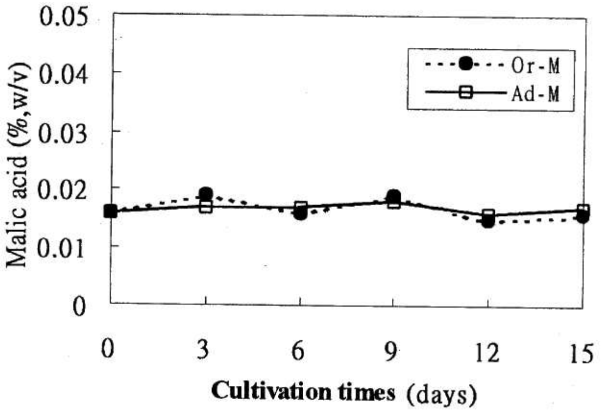

圖 5. 木質醋酸菌發酵期間培養基質之蘋果酸含量變化

Fig. 5. Changes of malic acid contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

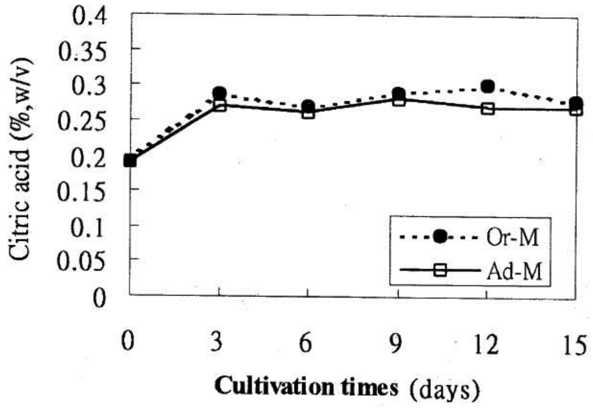

圖 6. 木質醋酸菌發酵期間培養基質之檸檬酸含量變化

Fig. 6. Changes of citric acid contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

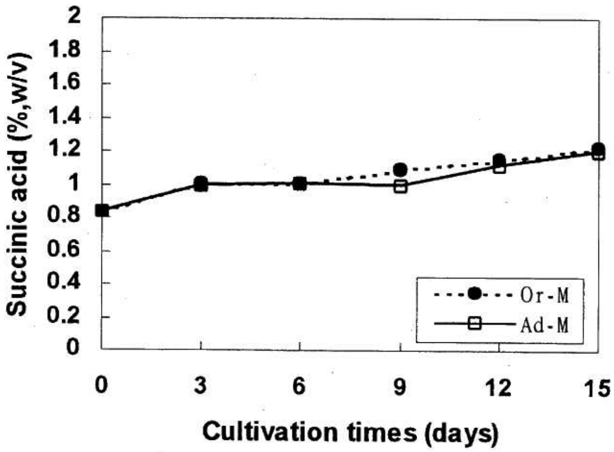

圖 7. 木質醋酸菌發酵期間培養基質之琥珀酸含量變化

Fig. 7. Changes of succinic acid contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

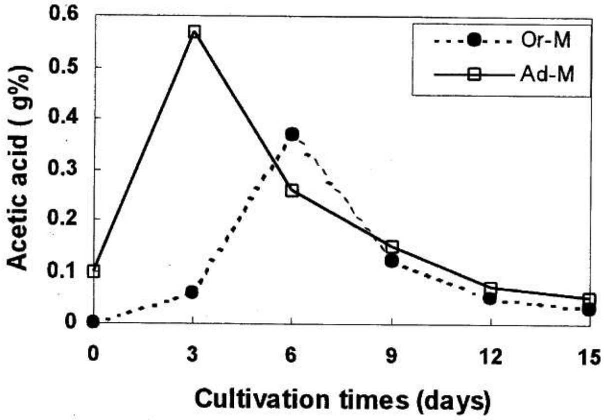

圖 8.木質醋酸菌發酵期間培養基質之醋酸含量變化

Fig. 8. Changes of acetic acid contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

㈢糖類含量變化及蔗糖水解率、總糖利用率及轉換率

蓮霧汁中的糖類主要爲果糖、葡萄糖及蔗糖，分析發酵蓮霧汁培養基之含量變化，糖類中的葡萄糖(2.72 %)有 0.42 g 的消耗，果糖及蔗糖則各別消耗 0.02g (圖 9)。蔗糖水解率約 6.7%，總糖利用率亦爲 7.0%，糖類轉換爲細菌纖維素的轉換率約 91.3% 。實驗結果顯示木質醋酸菌 Axy1220 在醉期間對糖類的利用率並不高，但轉換率比例頗高。

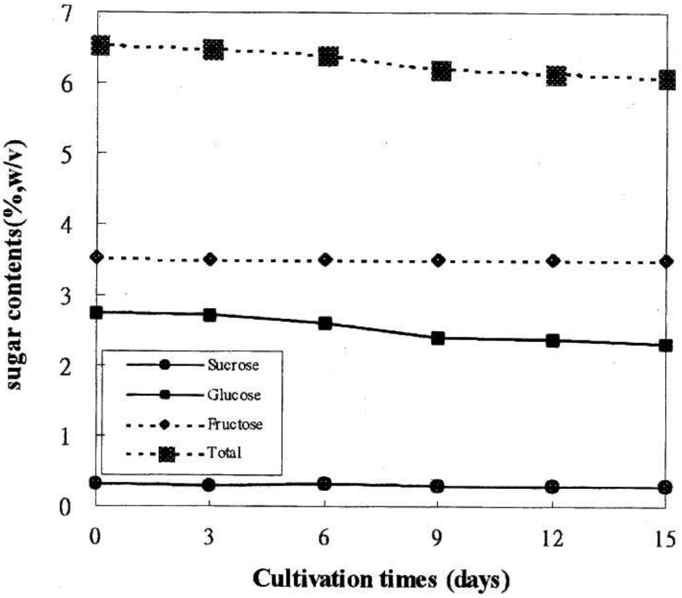

圖 9. 木質醋酸菌發酵期間培養基質之糖類含量變化

Fig. 9. Changes of sugar contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.
Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice
Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

討 論

本實驗所用的木質醋酸菌 *A. xylinum* Axy1220，原爲印尼發酵椰水的菌株，經過馴化，其細菌纖維素生產仍然未達商業產能，討論其可能影響因子包括：

⑴菌種活性，生長於不同培養基質的外來菌株，需經較長時間的馴化，方能恢復其原有產能。依 Mendoza [12]之研究，在最適條件下，以木質醋酸菌發酵一公升的培養液可生產 483 g 的 nata de coco，生產率約 48%；閻和李氏[3]自紅茶菇中分離之菌株，以稀釋鳳梨皮汁爲發酵基質，部分菌株的細菌纖維素生產率可達 46-48%，本實驗所用之兩種培養基的生產率約 31%，如以國內自行由紅茶菇中選殖之木質醋酸菌菌株來發酵，對細菌纖維素的生產率可能會有較明顯的改善。

⑵ pH 值，本實驗之蓮霧汁培養基中的有機酸含量變化，顯示大部分呈上升趨勢，導致 pH 值快速在第三天已下降至 pH 3.6。報告[8,10,11]顯示木質醋酸菌生產細菌纖維素的 pH 值爲 3.5-7.0 左右，而最適生長 pH 值則在 4.5-5.0 左右，當 pH 值低於 3.5 以下時，其細菌纖維素的生產可能會減少或停止[9,10]。

何氏[2]研究顯示，在 pH 值降至 pH 3.5，細菌纖維素之產量有減緩趨勢。但在閻和黃氏[4]的研究報告顯示，最適生長 pH 值範圍未必與最適合成細菌纖維素之 pH 值範圍重合。pH 值與細菌纖維素生產量之間之關係如何，有待再詳細探討。

(3)醋酸，爲木質醋酸菌在生長期間所產生之二次代謝產物，本實驗中醋酸含量隨發酵時間的延長先增而後減少。閻和黃氏[4]以楊桃渣液爲發酵基質，分析其有機酸含量變化，醋酸(添加 1%)含量則隨發酵時間延長而下降(檸檬酸及葡萄糖酸含量有上升趨勢 0.25%)。何氏[2]分析以二次萃取之晚崙西亞柳橙汁爲基質靜置培養，發酵液之醋酸含量可達 1.1%，其含量至發酵最終並無下降趨勢。醋酸爲二次代謝產物，含量減少是否意味著木質醋酸菌的生長停滯，或因菌種差異某些菌株可以將醋酸轉換成所需之物質，有關有機酸的含量變化與木質醋酸菌生產細菌纖維素的相關性如何有待更進一步探討。

實驗顯示木質醋酸菌 Axy1220 對糖類的使用情形並不高，依閻和李[3]的研究，發酵基質相同的情形下，不同木質醋酸菌菌株之蔗糖水解率、總糖利用率及細菌纖維轉換率，有明顯差異。故只以蓮霧汁本身的糖類爲木質醋酸菌 Axy1220 發酵的碳源，應是足夠的，外加過多的碳源可能並非必要。

引用文獻

1. 吳東和、林慶文。1994。Nata-被遺忘的機能性食品。食品工業 26(6):42-47。
2. 何佳倫。 1996。以醋酸菌發酵柑桔果汁生產細菌纖維素之研究。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
3. 閻立平、李瑞吉。1996。利用醋酸菌發酵鳳梨皮汁生產細菌性纖維素之研究. I. 產纖維素分離株之篩選及菌劫活化方式之探討。85 年度蔬果加工產品研究成果彙編 147-163 頁。
4. 閻立平、黃伶妃。1997。利用醋酸菌發酵楊桃渣生產細菌纖維素食品之研究。85 年度蔬果加工產品研究成果彙編 195-174 頁。
5. 戸田登志也、桑名好惠、桐山修八. 1994.ナタ喝デココの新機能.血中コレステロ-ル低下作用.と應用開發 食品と開發 29(8):16-21.
6. 深谷正裕、川村吉也. 1994. 酢酸菌の生產するバイオセルロ-ス . 釀協 89(7):536- 543.
7. Alaban, C. A. 1967. Studies on the optimum conditions for Nata de coco bacterium or Nata forma tion in coconut water. Phil. Agric. 45: 490-515.
8. Banzon, J.A., O. N. Gonzalez, S. Y. Dedeon, and P. C. Sanchez. 1990. Chapter XIV Nata de coco in coconut as food, Inc (PCRDF), Philippines.
9. Bio-Rad Laboratories. 1928. (bulletin) Guide to Aminex ® HPLC Columns pp.76. USA.
10. Embuscado, M. E., J. S. Marks, and J. N. Bemiller. 1994. Bacterial cellulose I. Factors affecting the production of cellulose by Acetobacter xylinum. Food-Hydrocoll 8(5):407-418.
11. Lapuz, M. M., E. G. Gallardo, and M. A. Palo. 1967. The nata organism-cultural requirements, characteristics, and identity. Philip. J. Sci. 96(2)91-109.
12. Masaoka, S., T. Ohe, and N. Sakota. 1993. Production of cellulose from glucose by Acetobacter xylinum. Journal of Fermentation and Bioengineering 75(1):18-22.
13. Mendoza, J. M. 1961. Philippine foods, their processing and manufacture. Philip. J. Sci. 96(2):91-109.
14. Okiyama, A., H. Shirae, H. Kano, and S. Yamanaka. 1992a. Bacterial cellulose I. Two-stage fermentation process for cellulose production by Acetobactr aceti. Food-Hydrocoll 6(5):471-477.
15. Okiyama, A., M. MotoKi, and S. Yamanaka. 1992b. Bacterial cellulose II. Processing of the gelatinous cellulose for food materials. Food-Hydrocoll 6(5):479-487.
16. Tsugawa, R. 1997. Application of biotechnology in Japanese food industries. Member handbook of Chinese Institute of Food Science and Technology 27th pp.106-107.
17. Yamanaka, S., K. Watanbe, and N. Kitamura. 1989. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. J. mater. Sci. 24:3141- 3145.

Bacterial Cellulose Production with Wax-apple juice [1]

Shu-Hui Yang [2]

Summary

Bacterial cellulose is the secondary metabolic product of *Acetobacter xylinum* fermented coconut water or fruit juice. Its extensively used as gelling or suspending agents, as protective colloids or as thickening agents in commercial jelly or ice cream. Part of this research was intended to produce bacterial cellulose by using post-pluck wax apple juice as the substrate and to study the changes of substrate components. Results showed that bacterial cellulose yield produced from wax apple juice was about 31%. Titratable acidity of fermented culture was increased from 0.21 % to 0.98 %. Organic acid included citric acid, succinic acid, and gluconic aicd contents were increased significantly except for malic acid. Acetic acid is another secondary metabolic product by *A. xylinum Axy* 1220. Along the fermentation time, acetic acid content was increased from zero to 0.37% at early step , then decreased to 0.04% at final stage. The sugar utilization rate of A. xylinum Axy1220 was low (7.0%), but the cellulose conversion rate was 91.3%.

key words：Wax-apple juice, Bacterial cellulose, Substrate components.

---

1. Contribution No. 1962 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Assistant for Fengshan Tropical Horticultural Experiment Station, TARI, Fengshan, Kaohsiung, Taiwan, ROC.

中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）47(4)：419～429（1998）

稻穀不同儲存方式對積穀害蟲族群之影響 [1]

姚美吉 [2] 楊敏宗 [3] 羅幹成 [2]

摘要：台灣稻穀最常以 PP 袋平倉堆疊方式儲存，而棧板堆疊及太空包裝儲存則漸受喜愛。本試驗在銅鑼農會比較 PP 袋平倉堆疊儲存與太空包裝儲存期間積穀害蟲之族群變化，調查發現其害蟲密度隨季節波動，夏季高溫時害蟲繁殖快速成長，冬季低溫時密度最低。調查期間(1996 年 8 月至 1998 年 8 月)共發現害蟲 10 種及捕食性天敵 2 種，主要害蟲爲穀蠹(*Rhyzopertha dominica* Fabricius)，佔所有害蟲數之 86.8%；其次爲麥蛾(*Sitotroga cerealella* Olivier)，佔 5.9%。粗腿花椿(*Xylocoris flavipes* (Reuter))爲主要天敵，其族群密度亦與害蟲密度成正相關。害蟲之爲害部位主要在上層及下層，中間部位則較輕微。比較兩種儲存方式之害蟲密度與稻穀爲害率均無顯著差異。在南投市農會比較三種方式儲存對積穀害蟲密度之影響，發現棧板堆疊時麥蛾爲最優勢種，平均佔 95.8%。PP 袋平倉堆疊及太空包裝儲存，仍以穀蠹數量最多。相較於 PP 袋平倉堆疊，棧板堆疊及太空包裝儲存並未造成害蟲更嚴重爲害，在未來可推薦這兩種新的儲穀方式應用於稻穀儲存，將更有效率而經濟。

關鍵詞：PP 袋平倉堆疊、太空包裝堆疊、棧板堆疊、積穀害蟲、穀蠹、麥蛾、粗腿花椿。

前　　言

水稻爲台灣最重要糧食作物，最高年產量曾高達 342 萬噸。近年因農業政策改變及鼓勵轉作等因素，使產量逐年下降，但在 1995 年產量尙達 207 萬噸[20]。稻穀於收穫烘乾後進倉儲藏，以供應全年民生需求及其他需要如製造飼料、釀酒…等，儲存時間少則半年，長則二年以上，因此害蟲防治成爲穀倉管理上重要一環[2]。在 1955 年之前，糧倉甚少合於標準，因通風設備欠佳，屋頂單薄，使倉庫內部溫度高出外界 3-5℃，助長害蟲繁殖，使儲存 4 個月以上之積穀蟲害損失率就高達 6%[9]。隨後在政府大量補助興建新式糧倉及改善蟲害防治方法下，到 1980 年再調查，稻穀儲存一年後蟲害損失率約爲 2 %[18]。若以 1996 年稻穀收購數量 29.7 萬噸進行估算，每公斤稻穀 19.91 元，一年後之損失將達 1.18 億元，稻穀損失率雖明顯下降，但實際損失量仍相當可觀。

台灣稻穀儲藏方式，在 1980 年以前主要以散裝儲存，因其成本低、儲存方便、少人工，但缺點是散裝易造成穀物發熱或回潮現象，造成稻穀變質。因此張長泉等探討以袋裝方式儲藏的可行性，評估結果袋裝倉庫儲存除可避免散裝倉庫儲存缺失外，在儲穀及搬運上均較便利，且其稻穀品質較佳。缺點是袋裝倉儲成本較高，且害蟲發生也較嚴重[8]。但因袋裝方式仍有諸多優點，故大部份穀倉逐漸改爲袋裝儲藏。於 1993 年在台灣各地穀倉調查時，以袋裝儲藏的穀倉約佔所有穀倉之 96.3%，若再扣除儲存雜糧的圓筒倉，其比例更高達 98.5%，顯見以 PP 袋包裝的平倉堆疊方式已廣爲倉庫管理者接受

---

1. 台灣省農業試驗所 研究報告第 1963 號。

2. 本所應用動物系助理研究員及研究員兼系主任。台灣省　台中縣　霧峰鄉。
3. 台灣省糧食處技士。台北市。

[19]。但近年來由於農村勞力不足且有老化趨勢，工資日益昂貴，且許多穀倉在規劃興建時，沒有考慮到配合機械化作業問題，逐漸衍生出許多問題。如袋裝平倉堆疊，在進倉時尚可用機械化擱板式輸送機的倉庫，約佔 48.5%，人工搬運佔 42.9%。但出倉時則因倉庫設計的限制，大部份以人工搬運，佔 61.5%，其次爲擱板式輸送機約佔 21.9%[19]。因此以袋裝平倉堆疊儲存方式，在進倉、出倉速度及工作能量上均逐漸暴露出缺點，使倉儲的成本逐年升高。

自 1990 年起政府開始輔導鄉鎮農會設置「穀物乾燥中心」，直接收購濕穀，統一乾燥後輸送入倉庫儲藏。農民不再自行乾燥稻穀，除可維護稻米品質一致外，尙可減輕人力及搬運費用，使生產成本明顯降低且補助農會購置推高機等機械化設備，以推動稻穀收穫後處理作業之自動化[10,16,17]。因此以棧板推疊或每袋可容一公噸之太空包裝，再配合推高機之作業方式，逐漸廣爲一般倉儲管理者所喜好。但使用此方法儲存，是否會造成米質的改變或積穀害蟲之大量發生，則成爲一般使用者的隱憂。本試驗將藉由定期監測，以瞭解積穀害蟲族群之變化，來探討不同儲藏方式對積穀害蟲族群之影響，提供未來儲藏方式改良及推廣運用的參考。

材料與方法

一、倉庫稻穀儲存方式

(一)苗栗縣銅鑼農會倉庫第 12、15 號倉，試驗期間自 1996 年 8 月至 1998 年 8 月。材料爲 1996 年一期稉稻。對照組爲 60 公斤裝之 PP 編織袋，約 150 公噸。試驗組爲一公噸裝之太空包裝，約 396 公噸。

(二)南投市農會第 8 號倉，試驗期間自 1995 年 12 月至 1997 年 12 月。材料爲 1995 年二期稉稻。對照組爲 60 公斤裝之 PP 編織袋。試驗組爲一公噸裝之太空包裝及棧板堆疊。

二、積穀害蟲族群密度調查

稻穀於進倉堆疊完畢後，從表層之穀袋內以 Seedburo 公司之分格式取樣管進行隨機取樣，每樣品量約 4 公斤，共三重複。往後每隔三個月取樣一次，直至二年儲存期滿爲止。每次取樣均調查樣品中所含之積穀害蟲成蟲種類，並計算其成蟲數。三處理之成蟲數以 Duncan's 多變域測驗分析其顯著性，顯著水準爲 5 %。

三、清倉時不同部位之害蟲密度及稻穀被害率調查

稻穀儲存兩年後(1998 年 8 月)，清倉時取 PP 袋對照組之上層、中層(約離上層 8-10 包袋高之穀包)及下層(棧板上之穀包)之前面(門口旁)、中間(離前後約 5 包袋穀)、後面(與太空包相連)部位稻穀，每部位各取 2 公斤，均三重複。太空包之試驗組則取中層(第二層)及下層之前面(與 PP 袋相連)、內面(離前後約有 5 各太空包)部位稻穀。每次取樣均調查樣品中所含之積穀害蟲種類，並計算其害蟲數。

結　果

一、銅鑼及南投農會穀倉之積穀害蟲族群密度變化

銅鑼農會之稻穀於 1996 年 8 月進倉時取樣調查，均無害蟲。往後每三個月調查一次，PP 袋儲存分兩區，第一區於第 15 倉外部進口處，其兩年內害蟲種類及族群密度消長如圖 1A，第二區於第 12 倉，害蟲密度消長如圖 1B。太空包儲存於第 15 倉內部，其結果如表圖 1C。所調查之害蟲種類大致相同，計有 10 種，分別爲穀蠹(*Rhyzopertha dominica* (Fabricius))、麥蛾(*Sitotroga cerealella* (Olivier))及次級害蟲包含玉米象(*Sitophilus zeamais* Motschulsky)、米象(*Sitophilus oryzae* (L.))、擬穀盜(*Tribolium castaneum* (Herbst))、細擬穀盜(*Gnathocerus maxillosus* Fabricius)、長首穀盜(*Latheticus oryzae* Waterhouse)、邏邐穀盜(*Lophocateres pusillus* Klug)、角胸扁蟲(*Cryptolestes pusillus* Schonherr)、鋸胸粉扁蟲(*Oryzaephilus surinamensis* (L.))。其中玉米象與米象在外形上極爲相像，可利用其前胸背板刻點之疏密及規則作爲判別。但因調查時不易區分，故均以米象類(*Sitophilus* spp.) 代表此兩種害蟲。

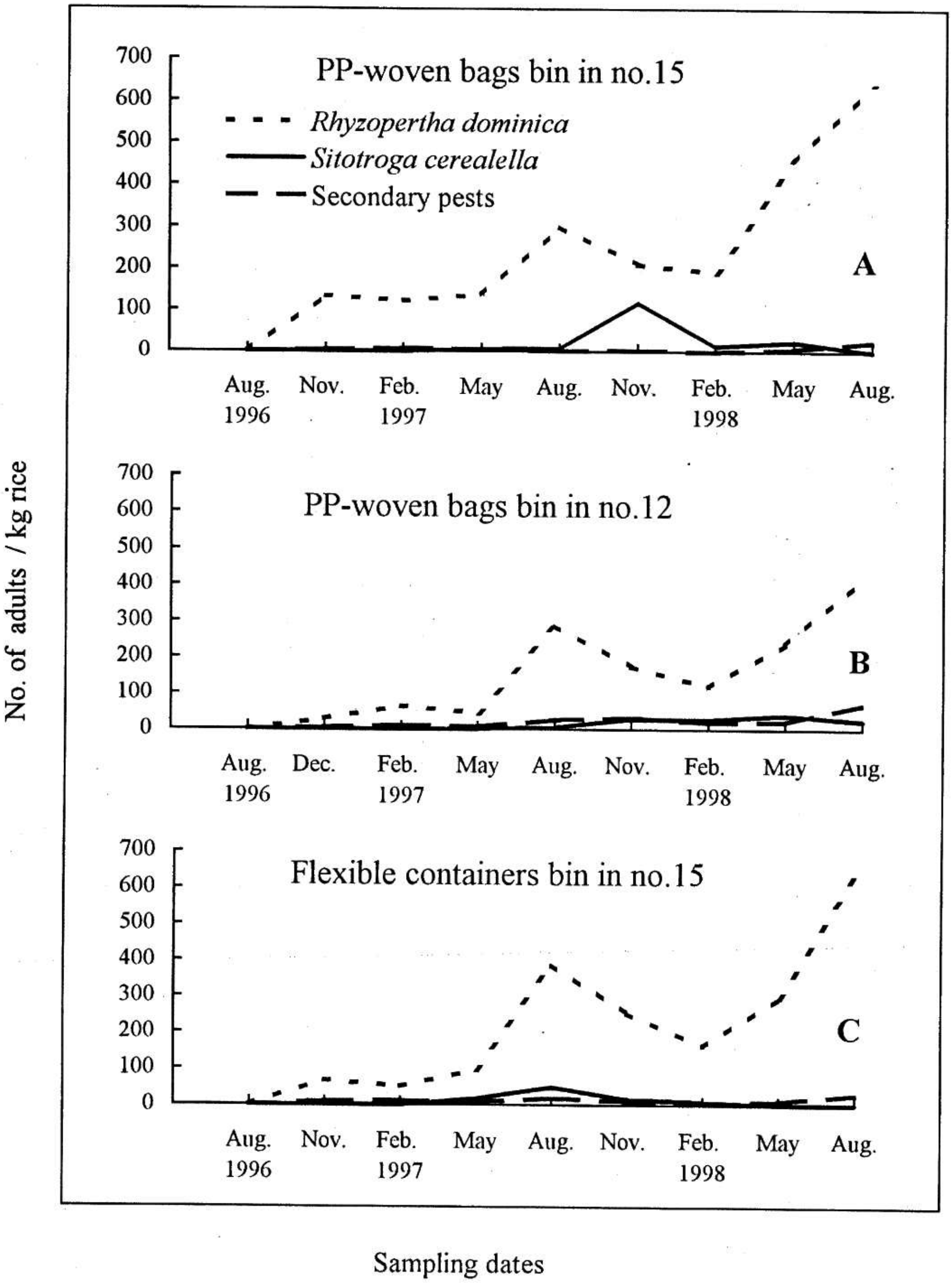

圖 1. 銅鑼農會稻穀不同儲存期間之主要及次要害蟲密度消長

Fig. 1. Population fluctuations of primary and secondary insects in rice stord for various periods in Tunglo

積穀害蟲族群以穀蠹密度最高，在第 15 倉 PP 袋儲存稻穀中，於儲存 3 個月後(1996.11)出現第一個高峰期，成蟲數已達每公斤稻穀中 134 隻；儲存 6 個月密度下降，蟲數 121 隻；儲存一年後再出現第二個高峰期，蟲數 300 隻；儲存 18 個月蟲數再下降至 192 隻；儲存二年後再逐漸上升，蟲數達 640 隻。在第 12 倉 PP 袋中，害蟲族群發展較緩，於儲存 6 個月後(1997.2)出現第一個高峰期，蟲數達 63 隻；儲存 9 個月蟲數下降為 45.5 隻；儲存一年後再出現第二個高峰期，蟲數 287 隻；儲存 18 個月蟲數再下降為 120 隻；儲存二年後再逐漸上升，蟲數 422 隻。在太空包裝中，害蟲族群發展亦相似，於儲存 3 個月後(1996.11)出現第一個高峰期，蟲數達 67.3 隻；儲存 6 個月蟲數下降至 49.6 隻；儲存一年後再出現第二個高峰期，蟲數 388 隻；儲存 18 個月蟲數再下降至 163 隻；儲存二年後再逐漸上升，蟲數 635 隻。歷次調查中，穀蠹佔害蟲數最低 63.5%，最高達 96.9%，總平均高達 86.8%。

另一主要害蟲麥蛾，其密度變化較大，在第 15 倉 PP 袋中，在儲存第一年中密度均甚低。但於儲存 15 個月(1997.11)出現第一次高峰達 117 隻；於 21 個月後再出現第二個高峰期，蟲數 24.1 隻；隨後密度再下降，於二年後蟲數僅佔 0.1%。在第 12 倉 PP 袋中，結果亦相似，於儲存 15 個月出現第一次高峰達 30 隻；於 21 個月後再出現第二個高峰期，蟲數 40.1 隻；隨後密度再下降，於二年後 25.3 隻。太空包裝中，族群之發展則與PP袋相異，於一年後(1997.8)達最高峰 49.1 隻，其餘密度均甚低，麥蛾密度總平均佔害蟲數之 5.9%。

次級害蟲如玉米象、細擬穀盜、暹邏穀盜等，密度均不高，在第 15 倉之 PP 袋中，儲存二年後達最高峰 24.1 隻。第 12 倉 PP 袋中，儲存二年後亦達最高峰 69.2 隻。太空包裝中，次級害蟲發展亦相似，儲存二年後亦達最高峰 29.4 隻，總平均佔 7.2%。

比較三處之害蟲族群密度，每季調查之蟲數經統計分析後，除第 9 個月之 PP 袋第 12 倉與其他兩處理有顯著差異外，其餘結果均無顯著差異。

積穀害蟲天敵，經調查主要發現粗腿花椿(*Xylocoris flavipes* (Reuter))及直腹僞蠍(*Chelifer nodosus* Schrank)。此兩種均為捕食性天敵，主要捕食害蟲卵及幼蟲。數量上主要為粗腿花椿，其族群消長如圖 2，而直腹僞蠍數量甚少。在第 15 倉PP袋中，粗腿花椿密度均不高，在儲存 21 個月達最高峰，每公斤稻穀中含 10.9 隻；在第 12 倉時 PP 袋中，於儲存一年後出現第一次高峰期，達 32.9 隻，與害蟲數相比約 1：9.8；在 21 個月後再出現第二次高峰期，達 14.9 隻。在太空包裝中，亦於一年後達最高峰，含 36.6 隻，與害蟲數相比約 1：12.5。

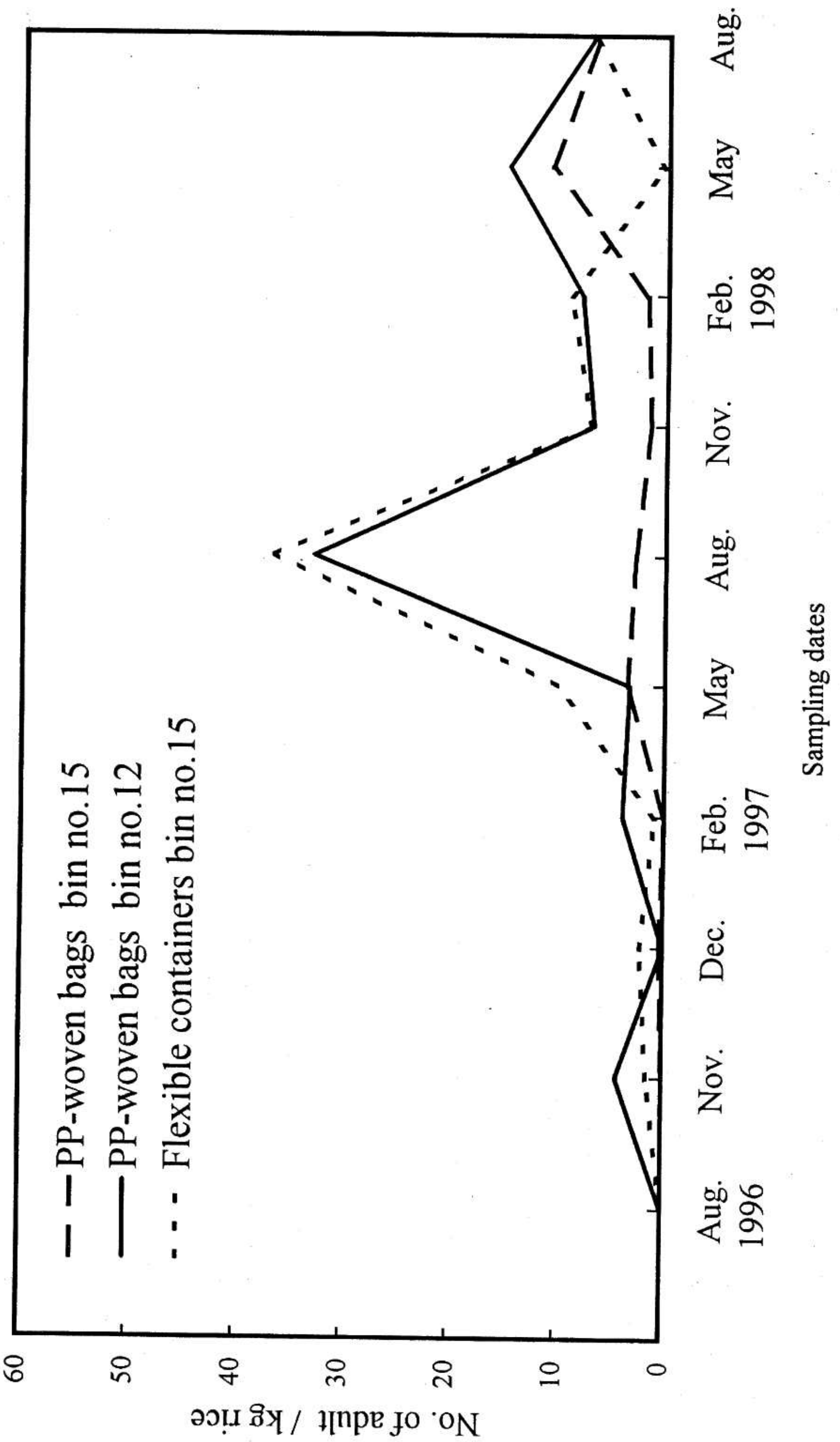

圖 2. 銅鑼農會不同儲存方式稻穀中害蟲天敵粗腿花椿之族群變化
Fig. 2. Population density of the predator *Xylocoris flavipes* in stored rice at Tunglo

南投市農會於 1995 至 1997 年配合糧食處進行 PP 袋平倉堆疊、棧板堆疊及太空包裝等三種儲存方式對稻穀儲存品質之影響試驗，因原先設計未包含積穀害蟲之監測，於銅鑼農會調查後，才開始配合監測積穀害蟲密度，故資料不全。該農會倉庫儲存稻穀之害蟲種類及族群密度變化如表 1，其害蟲種類較銅鑼農會少兩種，分別為穀蠹、米象類、麥蛾、擬穀盜、暹邏穀盜、角胸扁蟲、鋸胸粉扁蟲。PP 袋平倉堆疊三類害蟲數均較太空包裝及棧板堆疊為少，其害蟲密度在 15 個月後僅 15.8 隻，二年後達 313 隻。太空包裝則略高，在 15 個月後 107 隻，二年後達 618 隻。棧板堆疊則密度甚高，在 15 個月後已達 518 隻，二年後 775 隻。

表 1. 南投農會不同儲存環境下稻穀之主要及次要害蟲密度及百分比

Table 1. Population densities and percentages of primary and secondary insects in rice stored for various periods with different packing methods at Nantou

Species	No. of adults / kg rice (adult / Total adult %)								
	PP-woven bag [z]			Flexible container [y]			wood pallet [x]		
	15 months [w]	21 months	Two years	15 months	21 months	Two years	15 months	21 months	Two years
Rhyzopertha domirica	4.1(25.9)	25.3(56.3)	198(63.5)	13.1(12.4)	113(65.2)	406(65.7)	1.5(0.3)	1.8(0.6)	35.7(4.6)
Sitotroga cerealella	5.1(32.3)	12.8(28.4)	82.1(26.3)	89.4(83.7)	26.4(15.2)	168(27.2)	513(99)	283(98.2)	698(90)
Other pests	6.6(41.8)	66.9(15.3)	27.8(10.1)	4.2(3.9)	34.2(19.8)	43.8(6.7)	4.1(0.7)	3.2(1.2)	41.5(5.4)
Total	15.8	45	313	107	173	618	518	288	775

[z] PP-woven bag： 60 kg of rice per bag

[y] Flexible container： 1,000 kg of rice per container

[x] Wood pallet： 60 kg of rice per bag, 25 bags per pallet

[w] 15 months： Mar. 1997; 21 months： Sept. 1997; two years： Dec. 1997

南投市農會之 PP 袋及太空包裝稻穀中，主要害蟲仍以穀蠹為優勢種，但在蟲數比例上已有明顯下降，在 PP 袋中平均佔 48.5%；太空包裝中平均 47.8%；棧板堆疊中，穀蠹則非常少平均僅 2.7%。而麥蛾在棧板堆疊中則成為最優勢種，平均 95.8%；在 PP 袋平倉堆疊中麥蛾亦較銅鑼農會密度高，平均 29%；太空包裝中狀況相似，平均 42.1%。次級害蟲密度亦較銅鑼農會高，在 PP 袋平均 22.4%；太空包裝中密度亦較銅鑼農會高，平均 10.1%；在棧板堆疊中，數量則較低，平均 2.4%。

在調查中亦發現捕食性天敵，為粗腿花椿及直腹偽蠍，仍以粗腿花椿數量較多，在 PP 袋平倉堆疊中，儲存 15、21 個月及二年後蟲數分別為 2.2、15.3、15.5 隻。在太空包裝中，三次調查分別為 2.75、10.2、29.1 隻。在棧板堆疊中，分別為 1.4、5、24.1 隻。

二、清倉時不同部位之害蟲密度及稻穀被害率調查

銅鑼農會稻穀儲存兩年後，PP 袋平倉堆疊於 1998 年 8 月進行清倉，其各儲存位置主要害蟲密度如圖 3A。害蟲種類在上層、中層及下層大致相同，惟中下層無麥蛾。害蟲數量仍以穀蠹最多，均高於 92.8%。上層平均害蟲總數為每公斤稻穀 752 隻。中層之前面最高 584 隻，後面次之 328 隻，中間最少 181 隻。下層相似，前面最高 970 隻，後面次之 808 隻，中間最少 195 隻。太空包之堆疊，清倉結果如圖 3B，害蟲種類與平倉相似，其中下層亦無麥蛾。穀蠹仍為多數，除上層因麥蛾數量佔 11.1%，而使比例降至 84.8%外，其餘均高於 96.3%。上層總數為 872 隻。中層之前面 713 隻，內部 544 隻。下層相似，前面 1026 隻，內部 630 隻。

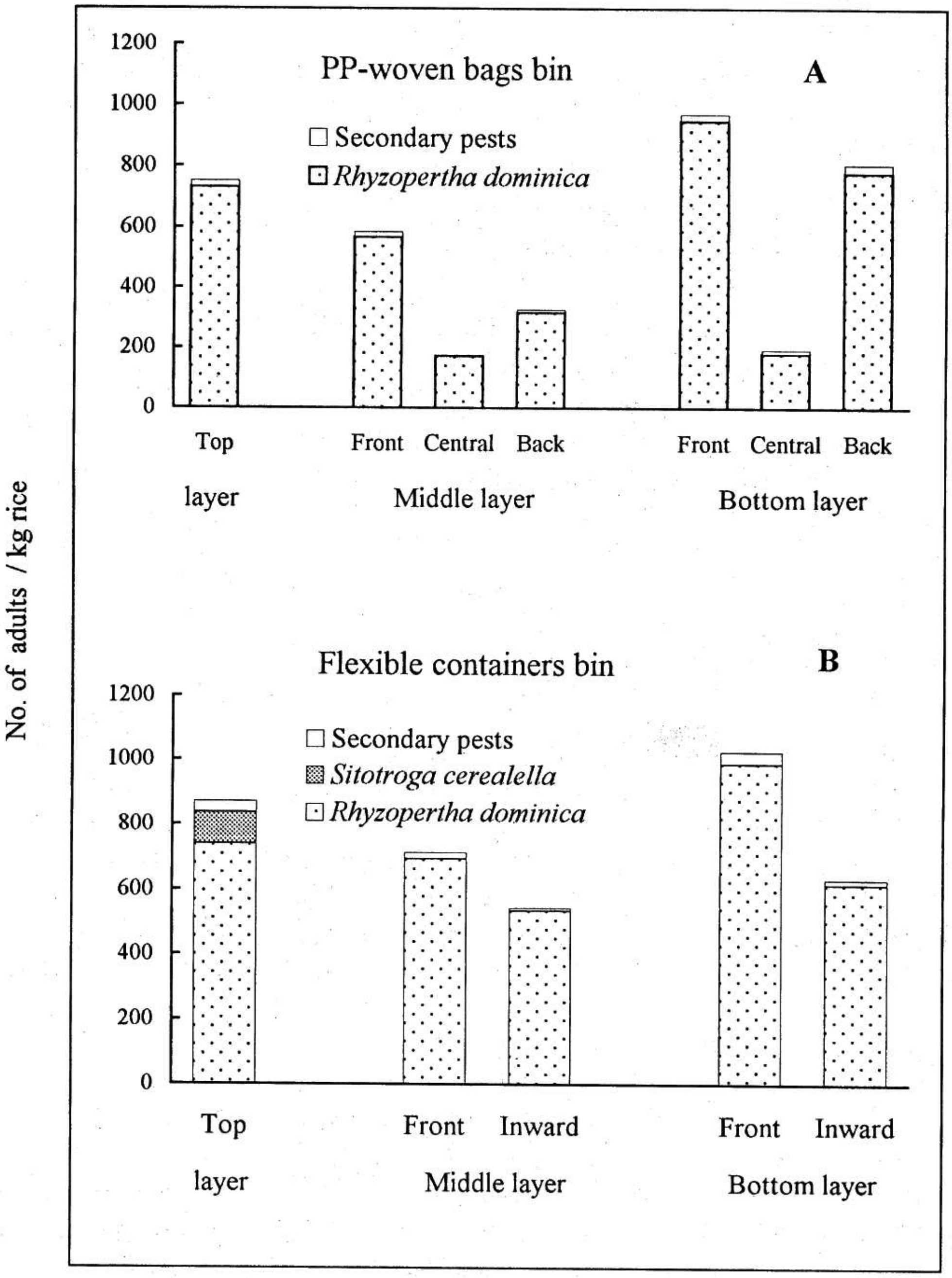

圖 3. 銅鑼農會 15 號倉稻穀在不同儲存位置之主要及次要害蟲密度

Fig. 3. Population densities of primary and secondary insects in rice stored for two years at different depths and positions in bin no. 15, Tunglo

討 論

本次試驗平倉堆疊所使用袋子與太空包裝袋子其材質均爲 Polypropylene，只在容量有所差異，平倉堆疊每袋約 60 公斤，太空包裝每袋可達 1,000 公斤，相差 16.7 倍。棧板堆疊則是每一個棧板上堆疊 60 公斤的穀袋 25 包左右，約 1,500 公斤。在銅鑼與南投市農會調查顯示，稻穀在三種堆疊處理下害蟲發生種類大致相同，均爲一般穀倉常見種類[7]。但主要害蟲卻有極大差異，在袋裝平倉及太空包裝堆疊稻穀中穀蠹數量最多，其次爲麥蛾。穀蠹及麥蛾均屬初級害蟲，可蛀食完整穀粒。張長泉等[8]在 1980 年比較稻穀袋裝及散裝貯存之害蟲發生，其主要害蟲爲穀蠹、邏邏穀盜、玉米象。在散裝倉中穀蠹佔總害蟲數之 54.8%，在袋裝倉中則高達 77.4%。姚美吉和羅幹成[2] 在 1992 年調查 57 處倉庫，穀蠹的比例亦高達 76.3%，顯示穀蠹持續爲倉庫中最優勢種。

在棧板堆疊稻穀中麥蛾卻成爲最優勢種，比例高達 95.8%，穀蠹數量反而甚少，只佔 2.7%。造成此現象的主要原因可能是棧板環境提供麥蛾大量繁殖的機會，因麥蛾喜產卵於袋的凹縫或稻穀的表面，棧板堆疊使穀袋外露的面積擴增 4 倍以上，使麥蛾侵入稻穀內產卵的機會大增。另麥蛾的繁殖期在溫度 21～30℃，相對濕度 80～93%時最短一世代只要 25 日[11]，遠較其他害蟲爲短，因此當環境合適時即能快速繁殖爲害。而南投市農會倉庫屬於大型集中倉，適合機械化作業，因此使用棧板堆疊的比例甚高，使整個倉庫區成爲合適麥蛾發展環境，本試驗袋裝平倉及太空包裝堆疊稻穀中麥蛾比例分別爲 29%及 42.1%，均遠較一般倉庫爲高，而穀蠹比例亦分別下降至 48.5%及 47.8%。稻穀之害蟲優勢種，有時亦受地理區不同而有變異，洪巧珍和黃振聲[6]在 1992 年調查稻穀主要害蟲，在北部及南部之倉庫以穀蠹爲主，分別佔 52.1 及 58.1%；中部以米象類爲主，佔 52.7%；在花東地區以麥蛾爲主，佔 70.8%。

彭武康[15]利用捕蟲器調查袋裝倉之積穀害蟲整年族群消長，鞘翅目害蟲密度高峰多出現於高溫季節，如穀蠹於 7 月及 9 月，而鱗翅目之麥蛾族群，第一次高峰在 5 月，次高峰在 11 月，但 6～10 月密度甚低。本試驗在銅鑼農會倉庫經兩年完整調查，所觀察到之害蟲族群消長，亦有相似之結果。穀蠹於 8 月間其密度達最高峰，在 2 月時密度最低。麥蛾在 PP 袋平倉則分別在 1997 年 11 及 1998 年 5 月出現高峰，而太空包裝卻在 8 月出現高峰。造成不同害蟲之族群消長差異，主要與害蟲之生長習性有關。穀蠹之生長適溫爲 32～35℃[22]，夏季高溫環境，最適於穀蠹之生長繁殖。而麥蛾之生長適溫爲 26～30℃，在 16℃以下，其生長發育則受阻[22]，因此在高溫或低溫環境均使麥蛾族群降低。其他次級害蟲如細擬穀盜、長首穀盜、邏邏穀盜、角胸扁蟲、鋸胸粉扁蟲，因無法蛀食完整穀粒，主要取食初級害蟲爲害後所產生之粉屑，所以其族群密度較低且隨初級害蟲之密度變動，當第二年 8 月穀蠹密度達到最高峰時，其他次級害蟲之密度亦達到最高峰。

粗腿花椿爲倉庫害蟲捕食性天敵，主要取食害蟲之卵、幼蟲及蛹。因此當害蟲密度增加時其密度亦隨之增加，在 8 月高溫時，其密度亦出現高峰。本次調查粗腿花椿密度最高時與害蟲總數相比，可達 10.2%，較 1992 年調查時 1.4%爲高[2]，顯示此天敵不只可立足於倉庫環境，且族群有逐漸升高之趨勢，值得進一步研究，未來將可應用於積穀害蟲之防治。

稻穀在倉庫的儲存位置及堆疊位置均影響害蟲爲害，以銅鑼農會第 15 倉 PP 袋堆疊放置於接近門口處，太空包裝則放置於同倉內部，另一 PP 袋堆疊放置於第 12 倉離出入口約 8 公尺，調查之害蟲數量雖經統計分析並無顯著差異，但以兩年結果來看，放置於接近門口處之 PP 袋堆疊稻穀中害蟲發生均較其他兩處理爲早且數量較多。堆疊位置差異，藉清倉調查時發現，PP 袋堆疊之中層中間部位害蟲數量最少，底層又高於上層，底層中又以前面靠近門口處最高。最少之中層中間與最多之底層前面的害蟲數相差有 5.4 倍。造成底層爲害反而高於上層的原因，可能爲 PP 袋堆疊之最下層放置棧板，使害蟲可藉由棧板所造成空間進行爲害，且棧板亦提供害蟲之棲息場所[1]。從害蟲的組成分析，穀蠹在各

層均能造成爲害，顯示穀蠹之垂直侵入能力遠優於其他害蟲，彭武康[12,13,14]調查亦有相似結果。而麥蛾只於上層發現，主要受限於麥蛾的產卵習性，其產卵深度 95%以上不超過 45 厘米，其餘亦不超過 50 厘米，以 0.60 厘米深度最多。孵化幼蟲通常由穀粒的胚部或損傷處蛀入，如在 2 日內不能蛀入穀粒取食，一般即死亡，因此麥蛾的爲害主要部位在稻穀表層[11]。太空包裝堆疊亦有相似結果，中層內部最少，前面高於內部，底層數量最高。但害蟲數量相近，並無顯著差異，主要因太空包裝堆疊，使包與包之間存有許多空隙，提供穀蠹侵入機會，使穀蠹在中下層之害蟲比率上高達 97.4%，在上層因袋口開啓尚發現麥蛾，而中下層並無麥蛾，其原因可能爲袋口因堆疊而掩蓋，且太空包之袋厚度遠較PP袋爲厚，使麥蛾無法順利產卵所致。麥蛾成蟲無法由袋裡飛出交尾，但其密度卻仍持續增加的原因可能爲礱米清倉時割破穀袋使麥蛾飛散，而許多農會已先行試用太空包裝儲存，其袋口並未密封亦使麥蛾密度增加之原因之一。

銅鑼農會儲存之稻穀爲第一期稻，南投市農會則爲第二期稻，從害蟲密度的消長分析，似乎第一期稻之害蟲數量較多且發展較快，但因比較之調查數太少，無法明確下定論。而造成不同期別稻穀之害蟲消長差異，主要可能爲第一期稻穀進倉時，正値害蟲發展之高峰期，害蟲之侵入機會增高及繁殖較快，使害蟲密度較第二期在隆冬時期進倉爲高。

現今穀倉環境逐漸改變，以往稻穀大都爲農民個別乾燥稻穀，再送至農會儲存，農會不可能將PP袋拆裝後再改以太空包儲存。但如今大部份農民不再自行乾燥稻穀，而是將收割後的濕穀直接送至農會之「穀物乾燥中心」進行乾燥。因此高容量又省人力的太空包裝儲存或以機械化之棧板堆疊，可行性逐漸大增。而現今倉庫管理最大的問題是工人難請、工資提昇，使管理成本逐漸增加。因此未來糧倉管理走向自動化是必然趨勢，依糧倉管理員經驗估計，以太空包裝儲存較傳統 PP 袋平倉堆疊可節省 3 倍以上人力，且工作效率更加提昇。本試驗調查 PP 袋平倉堆疊與太空包裝儲存在害蟲爲害上並無顯著差異，但棧板堆疊卻提供麥蛾大量繁殖機會，因此未來推薦此兩方法應用於稻穀儲存時，因穀蠹與麥蛾對推薦藥劑巴賽松均已產生極高抗藥性[3,4]，其害蟲的防治工作必須確實執行，方能避免積穀害蟲大量爲害而影響其米質。且以往於儲存後再以噴粉器將藥劑噴佈於穀堆之表層，無法防治內部害蟲，而使防治果效不彰。姚美吉[5]建議穀倉作業自動化時，應配合施藥自動化。在穀物乾燥後，於輸送入貯存槽前，加裝一個施藥設備，按稻穀流量與藥劑成一定比例混合進入貯存槽，再裝袋送入穀倉儲藏。如此流程不只可提昇害蟲防治效果，並可大幅減少防治所需的人工，且降低穀倉工作人員與藥劑的接觸，使工作環境更加健康、安全。

誌　謝

本研究承行政院農業委員會 86-食品會報-11-1 及 87-食品會報-01-6 計畫之經費補助，文成後承本所應用動物系周樑鎰博士及王清玲博士不吝撥冗斧正，試驗期中並承本系李錦霞小姐、銅鑼農會、南投市農會、苗栗糧管處劉華光先生及南投糧管處徐麗香小姐之協助，謹此一併致謝。

引用文獻

1. 林欉。1958。穀蠹生活習性之觀察。農業研究 8：55-66.
2. 姚美吉、羅幹成。1992。台灣儲藏袋裝稉稻中之昆蟲種類及其族群密度。中華昆蟲 12：161-169.
3. 姚美吉、羅幹成。1994。穀蠹對巴賽松之抗藥性研究。中華昆蟲 14：331-341.
4. 姚美吉、羅幹成。1995。麥蛾對巴賽松之抗藥性研究。中華農業研究 44(2)：166-173.
5. 姚美吉。1997。穀倉害蟲防治自動化之展望。技術服務。32：7-9.
6. 洪巧珍、黃振聲。1992。台灣各類穀倉中稻穀、糙米及粗糠之害蟲調查。中華昆蟲 12：269-276。
7. 洪巧珍、謝豐國、黃振聲。1990。積穀害蟲監視及藥劑防治試驗。中華昆蟲 10：169-179.
8. 張長泉、劉廷英、呂理焜。 1981。 稻穀袋裝及散裝貯存之品質及害蟲發生之比較。 科學發展月刊 9(7)：592-603。

9. 粱崇仁、陳德能、林欉。1954。台灣稻穀貯藏之現狀及積穀害蟲爲害損失之調查。科學農業 2：34-41.
10. 陳隆華、蕭介宗、詹德弘。1997。稻穀乾燥中心之系統模擬。農業機械學刊 6：85-96.
11. 陳耀溪。1985。倉庫害蟲。農業出版社出版。557 頁。
12. 彭武康。1977。鞘翅類害蟲在穀倉之分佈。稻作與糧食研討會專輯。台灣植保中心印行 74-79 頁。
13. 彭武康。1978。臺灣鞘翅類穀倉害蟲之發生。中央研究院 50 週年院慶，昆蟲生態與防治研討會講稿集。中央研究院動物研究所第三號專刊 181-187 頁。
14. 彭武康。1979。鞘翅類害蟲在倉貯蓬萊稻、在來稻及長粒秈稻之發生研究。科學發展月刊 7：602-608。
15. 彭武康。1984。袋裝穀倉數種積穀害蟲族群消長及施用巴賽松對族群之影響。臺大植物病蟲害學刊 11：105-114。
16. 蕭介宗、周瑞仁、歐陽又新、陳金淵、朱翰緣。1992。台灣水稻收穫後系統之自動化。農業機械學刊 1：47-51.
17. 蕭介宗、周瑞仁、歐陽又新、彭智平、陳怡人。1994。自動化水稻收穫後系統之發展。農業機械學刊 3：67-72.
18. 謝豐國、洪麗梅、高穗生、徐士蘭。1980。倉儲米穀蟲害損失估計。植保會刊 22： 385-395.
19. 糧食局。1993。臺灣省政府糧食局糧政業務委託倉庫調查報告 497 頁。
20. 糧食局。1996。臺灣糧食統計要覽 1996 年版 188 頁。
21. Birch, L.C. 1953. Experimental background to the study of the distribution and abundance of the insect. 1. The influence of temperature, moisture and food on the innate capacity for increase of three grain-beetles. Ecology. 34： 698-711.
22. Howe, R. W. 1965. A summary of estimates of optimal and minimal condition for population increase of some stored product insects. J. Stored Prod. Res. 1：177-184.

Insect Populations in Stored Rice of Different Packing and Storing Methods in Taiwan[1]

Me-Chi Yao[2], Min-Tzong Yang[3] and Kang-Chen Lo[2]

Summary

Rice was traditionally stored in PP-woven bags in the warehouses of local farmers' associations in Taiwan, but new methods with wood pallets and flexible containers have gradually been accepted and favored. Pest populations of stored grains stored using wood pallets and flexible containers, in Tunglo were compared. Populations of stored product insects fluctuated with seasons. High temperature in the summer caused rapid development of the pests. Ten species of pests and two species of predators were found in stored rice. The lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica,* was the dominant species. It represented 86.8 % of the total insects collected. The second most prevalent pest was the angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella,* which consisted of 5.9 % of the total. The major predator was *Xylocoris flavipes.* Its population densities correlated positively with those of pests. Damage of rice was more serious in bags stored at top and bottom layers. There was no significant difference in pest populations between rice packed in PP-woven bags and flexible containers. Pest populations of rice stored in PP-woven bags, wood pallets and flexible containers were compared in Nantou. About 95.8% of the insects collected from wood pallets were the angoumois grain moth, whereas the lesser grain borer was the major pest of rice packed in PP-woven bags and flexible containers. Compared with the traditional PP-woven bags, the wood pallets and the flexible containers are more efficient and more economical. These two new methods are recommended for the storage of rice in the future.

Key words : PP-woven bag, Wood pallet, Flexible container, Stored product insects, *Rhyzopertha dominica* Fabricius, *Sitotroga cerealella* Olivier, *Xylocoris flavipes* (Reuter).

---

1. Contribution No. 1963 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Assistant Entomologist and Senior Entomologist, Department of Applied Zoology,TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Junior Specialist, Food Department, Taiwan Provincial Government, Taipei.

中華農業研究稿約

一、本刊爲台灣省農業試驗所發行之學術性季刊，刊登農業試驗研究相關之研究報告及研究簡報。

二、來稿可用中文或英文撰寫，包括原稿一份及影本二份(內各附照片原圖)。稿件以未在其他刊物發表者爲限。稿紙以 A4 紙張(長 29.6 公分，寬 21 公分)打字列印，每頁以不超過二十五行爲原則，上下應預留 3 公分，左右 2 公分空間，以便審查。

三、來稿經編審委員會審查合格後刊登，由本刊印贈抽印本 50 本；彩色頁印刷及抽印本加印份數，由投稿人負擔印製費用。

四、稿件格式請依以下說明繕打：

(一)第一頁爲中文稿之中英文題目、作者之中英文姓名；英文稿之英中文題目、作者之英中文姓名。英文題目除介系詞、連接詞等字外，每字第一字母應大寫；英文姓名：名字在前，姓氏在後，作者二人或二人以上，最後一人前加"and"字樣，其表示方法如 Chen-Seng Huang, Chen-Chang Chen and Chyr-Guan Chern。

(二)第二頁爲中（英）文稿之中（英）文摘要與關鍵詞。中、英文摘要均不分段落。中文摘要以不超過五百字，英文摘要（Summary） 以不超過三百字爲原則。關鍵詞（Key words） 不能超過五個，每個英文關鍵詞第一字母應大寫，其表示方法如 Key words： Heritability, Indirect selection.

(三)第三頁爲中（英）文稿之英（中）文摘要與關鍵詞。中、英文摘要與關鍵詞書寫方式比照上項方式辦理。

(四)第四頁爲台灣省農業試驗所研究報告刊登之編號（編號牆空）、作者之註腳，如通信作者、發表場合、服務機關、及其他相關事項等，以小號數字表示順序。

(五)第五頁起爲本文，依序爲前言（INTRODUCTION）、材料與方法（MATERIALS AND METHODS）、結果（RESULTS）、討論（DISCUSSION）、誌謝（ACKNOWLEDGEMENTS，含計畫編號）、引用文獻（REFERENCES）、表、圖之說明（LEGEND）及圖，其中結果及討論兩項可合併爲「結果與討論（RESULTS AND DISCUSSION）」；研究簡報則不分章節，內容簡短，以不超過四印刷頁爲度 (約 6,000 字)。農推、農經研究報告參考本方法書寫。

(六)表格應注意事項：

1. 表格應分別繕製，上方須有標題，並加表 1（Table 1.），表 2（Table 2.）等冠號。
2. 中文稿之表格標題應中英文並列，冠號與表幅齊頭，表內項目及內容以英文書寫。英文標題及各欄英文細目，除第一字之第一字母大寫外，餘均小寫。
3. 表中加註，需以 z, y, x,……等縮小小寫字母置於右上角，並於表下依該縮小小寫字母逐次敘述。
4. 表格僅列橫線，直線全免。
5. 每一表格應在文中標示清楚，以便對照。

(七)圖片及照片應注意事項：

1. 插圖（需爲封閉方格，正方形或長方形）以黑色墨水分別繪製在繪圖紙或描繪紙（白色透明紙）上。如以電腦繪圖，請以鐳射印表機或同規格之印表機列印，力求清晰。
2. 圖中加註者，應於圖說明中註明。
3. 照片以光面紙爲原則，清晰度以縮小 50 % 可判讀爲宜；多幅照片儘量製成併版；如有特別指明，應加圈或箭頭表明；顯微照相，應加比例尺大小；照片大小以不超過版面（25cm×18cm）爲宜。

4. 圖片及照片下方應有標題及說明，並加圖 1（Fig. 1.），圖 2（Fig. 2.）等冠號；中文稿應中英文併寫，力求簡短。
5. 照片、圖片背面應註上冠號及作者姓名，以免排印錯誤。
6. 每一圖片應在文中標示清楚，以便對照。

(八)引用文獻注意事項：

1. 中、日文文獻以作者姓氏筆劃爲序，英文文獻以姓氏之字母爲序。中日韓英文併陳時，中文在前，日、韓文居次，英文隨後，其中作者相同，以年代爲序；同一作者同一年代之不同文獻，則增列 a,b,c 等區分。作者二位時，中、日、韓文文獻以"和"連接，英文文獻以"and"連接；作者三位或以上時，中、日、韓文文獻於第一作者後加"等"，英文文獻加"et al"。
2. 英文稿內之引用文獻中若有原始文獻爲中文者，請採用英文；其他語文文獻，請自行轉譯爲英文。
3. 西文雜誌名須用縮寫，其縮寫方式根據美國出版之" Biological Abstracts" 雜誌規定，中日文雜誌用全名。
4. 排序後之引用文獻前加註 1,2,3,……等序號；本文內容註明引用文獻出處時，直接以[1]或[1,2,3]等小號字表示。
5. 文獻的書寫範例如下：

(1)文獻出自學術性刊物

1. 陳隆澤、胡念才。1983。水稻品種(系)對稻熱病抵抗性反應之研究。中華農業研究 32：1-13。
2. Hsu, S. H., T. Y. Chung, T. C. Kuo and S. F. Wang. 1992. Studies on the micro-climate of greenhouse. I. Light environment of greenhouse (in Chinese). J. Agric. Assoc. China 157：34-43.
3. Weng, J. H. 1992. CO_2 exchange characteristics of C_3 and C_4 vegetable crops in response to light and nitrogen (in Chinese). J. Agric. Assoc. China 157：21-33.

(2)文獻出自著作性書籍

1. 楊清白。1980。家畜飼料學。74-108 頁。藝軒。台北。
2. Sung, J. M. 1991. Nitrogen Metabolism of Rice. p.100. Chinese Agronomy Press, Taipei.

(3)文獻出自編輯性書籍

1. Lo, W. S. 1991. The effect of calcium on nitrogen metabolism pp.100-110. in:Biology of Rice. (Sung, J. M. and D. J. Liu , eds .) Chinese Agronomy Press, Taipei .

(九)文字敘述之號次以下列爲序：

1. 中文用：一、 (一) 1. (1) ①
2. 英文用：I. i A. a.

(十)單位採用 SI units 爲準，不另加中文。統計分析顯著性應加註說明。

(十一)生物學名應於下方加底線，以便排斜體字，

五、稿件內容務須依照上列規定格式書寫，並勿一稿兩投；本刊編輯委員保有修改與退稿之權利。

六、文稿經本刊接受後，由作者負責前二校；非經本刊同意不得轉載。

七、其他未盡事宜得隨時修正或補充。

中 華 農 業 研 究

第四十七卷　目　次

王三太、林深林、張武男、蕭吉雄——不同葉萵苣栽培品種間的硝態氮含量調查 ……… 63
王昭月、范明仁——微衛星 DNA 與逢機增殖多型性 DNA 在番椒同種內種原鑑定之利用及比較 ……… 267
何千里、謝光照、盧煌勝——青割玉米單雜交種臺農三號之育成 ……… 189
呂秀英——分段直線迴歸模式與傳統迴歸方法對環境之非線性反應的比較研究 ……… 12
周樑鎰、許洞慶——臺灣小繭蜂科（膜翅目）之分類 Ⅷ. 天牛繭蜂族、鄰繭蜂族及長繭蜂族（英文）……… 284
周樑鎰——臺灣革翅目（昆蟲綱）名錄（英文） ……… 161
姚美吉、楊敏宗、羅幹成——稻穀不同儲存方式對積穀害蟲族群之影響 ……… 419
胡敏夫、姜金龍、龔財立、呂秀英、劉新裕——仙草優良品系區域適應性試驗 ……… 1
胡敏夫、張愛華、呂椿棠、劉新裕——不同氮磷鉀肥施用量與種植密度對仙草產量及品質之影響 ……… 259
范明仁、魏趨開、許庭榮、黃宜玫——種子水分含量下降速率之探討 ……… 28
夏奇鋌、王強生——水稻臺農 67 號胚癒合組織之誘導及再生力研究 ……… 338
梁連勝、陸龍虎、顏秀榮——氣輔桿式噴藥機之研製 ……… 166
陳　述、陳　成、范明仁、鄒篪生——綠豆種原外形性狀遺傳歧異之地理分布 ……… 109
陳威臣、蕭翌柱、賴建洲、蔡新聲——培養基組成與培養容器覆蓋物對康乃馨組織培養苗玻璃質化與發根的影響… 364
陳烈夫、呂椿棠、呂秀英——水芋在不同栽培季節之生長分析 ……… 220
黃維廷、黃裕銘、向為民、張明暉、林木連、王鐘和、吳婉麗——荔枝園營養調查與營養診斷研究 ……… 388
黃肇家——文心蘭切花之乙烯生成及外加乙烯與去除花藥蓋對花朵品質之影響 ……… 126
楊淑惠——蓮霧汁生產細菌纖維素之研究 ……… 408
溫宏治——印度棗葉蟬之發生消長與藥劑防治 ……… 136
劉邦基、張有明、許華欣、鄭櫻慧、張慧如、蕭吉雄——甜瓜逢機增幅多型性核酸（RAPD）標誌分析及其
遺傳特性之研究 ……… 377
劉新裕、張同吳、張愛華、王昭月、王順成——金線連之品種特性與急毒性研究 ……… 242
潘德芳、楊世華——玫瑰消費者之消費行為研究 ……… 182
蔡致榮、**H. Erdal Ozkan**——氣流屏蔽式施藥系統之設計評估 ……… 71
鄭　允、高靜華——應用 IRAC Method No. 7 (葉片浸藥法) 偵測小菜蛾對 BPU 類生長調節劑抗性之研究 (英文) … 143
蕭吉雄、曹幸之、曾明懋、王三太——雌雄異花同株菠菜品系之選育 ……… 54
蕭翌柱、許秀惠、王才義、蔡新聲——彩虹鳥蕉組織培養之研究
I. 培植體離體培養污染細菌之檢定及防治 ……… 346
賴明信、楊純明、郭益全——土壤缺水對水稻與陸稻期作間生產之影響㈠生長與產量之差異 ……… 95
謝光照、曾富生——臺南白玉米族群自交系之育成與評估 ……… 327
謝光照、曾富生——臺灣不同地區臺南白玉米族群性狀之變異 ……… 204
譚奇才、梁連勝、張庚鵬——探針注入式深層施肥機之研製及試驗改良 ……… 316

JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH OF CHINA

Contents of Volume 47, 1998

Chan, L. F., C. T. Lu and H. Y. Lu——Growth Analysis of Wetland Taro [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] under Various Crops Seasons ······ 220

Chen, S., C. Chen, M. J. Fan and S. S. Tsou——Geographic Distribution and Genetic Diversity for Morphological Characters in a World Germplasm Collection of Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) ······ 109

Chen, U. C., Y. J. Shiau, C. C. Lai and H. S. Tsay——Effects of Medium Composition and Vessel Closure on the Hyperhydricity and Rooting of Carnation *In Vitro* culture ······ 364

Cheng, Y. and C. H. Kao——Validation of a Field Monitoring System for BPU-Type IGR Resistance in the Diamondback Moth, (*Plutella xylostella*) Presumed Working Scheme Based on IRAC Method No. 7 (Leaf Dipping Method) ······ 143

Chou, L. Y. and T. C. Hsu——The Braconidae (Hymenoptera) of Taiwan VIII. Brulleini, Diospilini and Helconini ······ 284

Chou, L. Y.——A Check List of Dermaptera (Insecta) of Taiwan ······ 161

Fan, M. J., C. K. Wey, T. R. Shu and I. M. Huang——Studies on the Reducing Ratio of Seed Moisture Content in the Dry Room of NPGRC ······ 28

Ho, C. L., G. J. Shieh and H. S. Lu——Development of a Single-Cross Forage Maize Hybrid Tainung No. 3 ······ 189

Hsia, C. N. and C. S. Wang——Callus Induction and Shoot Regeneration from Mature Seed of Rice Tainung 67 (*Oryza sativa* L.) ······ 338

Hsiao, C. H., S. J. Tsao, M. M. Tseng and S. T. Wang——Selection for Monoecious Lines of Spinaches (*Spinacia oleracea* L.) ······ 54

Hu, M. F., A. H. Chang, C. T. Lu and S. Y. Liu——Effects of Different Application Rates of N-P-K Fertilizers and Planting Densities on the Yield and Quality of Hsian-Tsao (*Mesona procumbens Hemsl.*) ······ 259

Hu, M. F., J. L. Jiang, T. L. Koun, H. Y. Lu and S. Y. Liu——Regional Adaptability Trials of Elite Hsain-tsao Strains (*Mesona procumbens Hemsl*) ······ 1

Huang, C. C.——Ethylene Production of *Oncidium* Flower and the Change of Flower Quality Affected by Ethylene Treatment and Pollinia Cap Removal ······ 126

Huang, W. T., Y. M. Huang, W. M. Hsiang, M. H. Chang, M. L. Lin, C. H. Wang and W. L. Wu——Nutrition Studies on Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) Orchards in Central Taiwan ······ 388

Lai, M. H., C. M. Yang and Y. C. Kuo——Productioin of Lowland and Upland Rice to Soil Water Deficits in Different Crops. I. Differences in Growth and Yield ······ 95

Liang, L. S., L. H. Lu and S. R. Yen——The Development of an Air-assisted Boom-sprayer ······ 166

Liou, P. C., Y. M. Chang, W. S. Hsu, Y. H. Cheng, H. R. Chang and C. H. Hsiao——A Study of Random Amplified Polymorphic DNA and Its Genetic Characteristics in *Cucumis melo* ······ 377

Liu, S. Y., T. W. Chang, J. J. Wang, A. H. Chang and S. C. Wang——Studies on the Varietal Characters and Acute Toxicity of *Anoectochilus* spp. ······ 242

Lu, H. Y.——Comparative Study of a Piecewise Linear Regression Model with the Conventional Regression Model for Assessing Nonlinear Environmental Responses of Crops ······ 12

Pan, T. F. and S. H. Yang——A Study on Buying Behavior of Rose Consumers ······ 182

Shiau, Y. J., S. H. Hseu, T. Y. Wang and H. S. Tsay——Studies on Tissue Culture of *Heliconia psittacorum* 'Rhizomatosa' I. Identification and Control of Bacterial Contamination of Explants Cultured *In Vitro* ······ 346

Shieh, G. J. and F. S. Thseng——Development and Evaluation of Inbred Lines Derived from Tainan-White Maize Population ······ 327

Shieh, G. J. and F. S. Thseng——Variation of the Agronomic Characters of Different Tainan-White Maize Populations in Taiwan 204

Tan, C. T., L. S. Liang and G. P. Chang——The Development and Improvement of Needle Type Liquid Fertilizer Subsoil Injector 316

Tsay, J. R. and H. Erdal Ozkan——Design Evaluation of Pneumatic Shielded Spraying System 71

Wang, J. J. and M. J. Fan——Comparison on Microsatellite DNA and Random Amplified Polymorphic DNA Markers for Gerplasm Identification of *Capsium annuum* 267

Wang, S. T., S. L. Lin, W. N. Chang and C. H. Hsiao——Cultivar's Differences in Nitrate Content of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) 63

Wuen, H. C.——Seasonal Occurrence and Chemical Control of Indian-jujube Leafhopper (*Quadria pakistanica*) (Homoptera：Cicadellidae) in Taiwan 136

Yang, S. H.——Bacterial Cellulose Production with Wax-apple juice 408

Yao, M. C., M. T. Yang and K. C. Lo——Insect Populations in Stored Rice of Different Packing and Storing Methods in Taiwan 419

中華農業研究

第四十七卷　第四期

中華民國八十七年十二月出版

發行人：林俊義

總編輯：廖慶樑

編審委員：

農藝組：盧煌勝（主審）
王強生　呂秀英　郭益全　陳一心
楊純明　劉大江　劉新裕　蔡新聲

園藝組：蕭吉雄（主審）
王德男　施昭彰　徐信次　劉政道
歐錫坤

農化組：林木連（主審）
王鐘和　吳繼光　郭鴻裕　劉慧瑛

植病組：彭金騰（主審）
安寶貞　林正忠　張清安　程永雄
蔡武雄

昆蟲組：羅幹成（主審）
王清玲　何琦琛　周樑鎰　陳炳輝
陳健忠　鄭允　鄭清煥

農機組：梁連勝（主審）
黃禮棟　賴建洲　蔡致榮

另聘請農業評議委員或各大學院校有關學者專家擔任審查委員。

Vol. 47, No.4 Dec. 1998

JOURNAL

AGRICULTURAL RESEARCH OF CHINA

PUBLISHER：Director, Chien-Yih Lin

EDITOR IN CHIEF：Ching-Liang Liaw

EDITORIAL BOARD：

Chi-Hsiung Hsiao (Horticulture)

Lien-Sheng Liang (Agri. Engineering)

Hung-Shung Lu (Agronomy)

Mu-Lien Lin (Agri. Chemistry)

Kang-Chen Lo (Applied Zoology)

Jin-Torng Peng (Plant Pathology)

EDITORIAL ADVISORY BOARD：

Pao-Jin Ann	Chin-An Chang	Bing-Huei Chen
Chien-Chung Chen	Yi-Shin Chen	Ching-Huan Cheng
Edward Yun Cheng	Yung-Hsiung Cheng	Liang-Yih Chou
Horng-Yuh Guo	Chyi-Chen Ho	Hsin-Tszu Hsu
Li-Duhng Huarng	Yih-Chuan Kuo	Chien-Chou Lai
Cheng-Chung Lin	Tsung-Dao Liou	Dah-Jiang Liu
Huey-Ing Liu	Sin-Yie Liu	Hsiu-Ying Lu
Shyi-Kuan Ou	Jau-Chang Shih	Wu-Hsiung Tsai
Hsin-Sheng Tsay	Jyh-Rong Tsay	Chan-Sen Wang
Chong-Ho Wang	Chin-Ling Wang	Der-Nung Wang
Chi-Guang Wu	Chwen-Ming Yang	

Reviewers of Related Fields are Invited from Universities, other Research Organizations, and the Evaluation Committee of Agricultural Researches, Taiwan Provincial Department of Agriculture and Forestry.

統一編號
030853870046

行政院新聞局出版事業登記證局版臺省誌字二九八號
中華郵政中臺字第〇三〇九登記爲雜誌交寄

Vol. 47, No. 4 Dec. 1998

JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH OF CHINA

(Formerly Journal of Taiwan Agricultural Research)

CONTENTS

Development and Evaluation of Inbred Lines Derived from Tainan-White Maize Population ······ Guang-Jauh Shieh and Fu-Sheng Thseng ··· 327

Callus Induction and Shoot Regeneration from Mature Seed of Rice Tainung 67 (*Oryza sativa* L.) ······ Chi-Ni Hsia and Chan-Sen Wang ··· 338

Studies on Tissue Culture of *Heliconia psittacorum* 'Rhizomatosa' I. Identification and Control of Bacterial Contamination of Explants Cultured *In Vitro* ······ Yih-Juh Shiau, Shiow-Huey Hseu, Tsai-Yih Wang and Hsin-Sheng Tsay ··· 346

Effects of Medium Composition and Vessel Closure on the Hyperhydricity and Rooting of Carnation *In Vitro* Culture ······ Uei-Chin Chen, Yih-Juh Shiau, Chien-Chou Lai and Hsin-Sheng Tsay ··· 364

A Study of Random Amplified Polymorphic DNA and Its Genetic Characteristics in *Cucumis melo* ······ Pan-Chi Liou, You-Ming Chang, Wha-Shin Hsu, Ying-Huey Cheng, Hwei-Ru Chang and Chi-Hsiung Hsiao ··· 377

Nutrition Studies on Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) Orchards in Central Taiwan ······ Wei-Tin Huang, Yuh-Ming Huang, Wei-Min Hsiang, Ming-Hui Chang, Mu-Lien Lin, Chong-Ho Wang and Woan-Lih Wu ··· 388

Bacterial Cellulose Production With Wax-apple juice ······ Shu-Hui Yang ··· 408

Insect Populations in Stored Rice of Different Packing and Storing Methods in Taiwan ······ Me-Chi Yao, Min-Tzong Yang and Kang-Chen Lo ··· 419

Published by

THE TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE

Taichung, Taiwan, Republic of China